

**Einfluß chronischer Lithiumbehandlung auf die
Wirkung von Reserpin und α -Methyl-p-Tyrosin und
den Noradrenalin-Stoffwechsel im Rattenhirn**

Sigrid Müller

1974





Digitized by the Internet Archive
in 2026

Einfluß chronischer Lithiumbehandlung auf die
Wirkung von Reserpin und α -Methyl-p-Tyrosin und
den Noradrenalin-Stoffwechsel im Rattenhirn

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades
der
Fakultät für Chemie und Pharmazie
der
Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von
Sigrid M ü l l e r
aus
Holzminden

MÜNCHEN 1974

1. Berichterstatter: Prof. Dr. H. Wagner
2. Berichterstatter: Prof. Dr. N. Matussek

Tag der mündlichen Prüfung: 22.5.1974



Einige Ergebnisse dieser Arbeit sind veröffentlicht worden:

M. Matussek, S. Müller: Clinical and Animal Experiments concerning the Function of Brain Catecholamines.

Int. Pharmacopsychiat. 6 (1971) 170 - 196

N. Matussek, S. Müller: International Lithium Symposion Paris 1973: Lithium and Neurohormones (im Druck)

Die Experimente für die vorliegende Arbeit wurden in der Zeit von Oktober 1968 bis November 1970 in der neurochemischen Abteilung des Max-Planck-Instituts für Psychiatrie ausgeführt.

Meinem verehrten Lehrer,
Herrn Prof. Dr. N. Matussek,

danke ich für die Einführung in den Problemkreis dieser Arbeit und für seine großzügige Unterstützung bei ihrer Durchführung.

Herrn Prof. Dr. H. Wagner
danke ich für seine wohlwollende Förderung.

INHALTSÜBERSICHT

	Seite
A EINLEITUNG	1
B PROBLEMSTELLUNG UND ZIEL DER ARBEIT	4
C MATERIAL UND METHODEN	6
1 Versuchstiere	6
2 Futter mit Zusatz von LiCl	6
3 Lithiumbestimmung	7
4 Circadianer Rhythmus der motorischen Aktivität	7
5 Drogenapplikation	8
a) Reserpin	8
b) α -Methyl-p-Tyrosin Methylester (H 44/68)	8
6 Bestimmung von endogenem NA	9
7 Bestimmung von endogenem NA nach Vorbehandlung mit H 44/68	9
8 Intracisternale Injektion von 7^3H -NA und Präparation der Stammhirne	9
9 Bestimmung von 7^3H -NA und Metaboliten	10
D ERGEBNISSE	12
I Chronische Lithiumbehandlung	12
1. Gewichtsveränderung	12
a) Zusatz von 20 mval LiCl/kg Futter	14
b) Zusatz von 30 mval LiCl/kg Futter	14
c) Zusatz von 40 mval LiCl/kg Futter	16
2. Bestimmung von Li^+ im Serum der Ratten	16
3. Zusammenfassung und Diskussion der Futterversuche	18
II Einfluß chronischer Lithiumbehandlung auf die circadiane lokomotorische Aktivität	21
III Einfluß von Pharmaka auf die beiden NA Speicher	23

	Seite
1. Einfluß auf den labilen Speicher	24
a) Motorische Aktivität nach chronischer Lithiumbehandlung	24
b) Motorische Aktivität nach akuter Lithiumbe- handlung	26
c) Endogenes NA	28
d) Analyse der Sedation nach AMPT Behandlung	29
e) Zusammenfassung und Diskussion	31
2. Einfluß auf den stabilen Speicher	35
a) Verhalten	36
- 1 Reserpin 21 Uhr	36
- 2 Reserpin 23 Uhr	40
- 3 Reserpin 9 Uhr	40
- 4 Reserpin 14 Uhr	42
b) Biochemische Daten	42
- 1 Endogenes NA	43
- 2 Reserpin 3 mg/kg 21 Uhr vor 7^3H -NA 0 Uhr	44
- 3 Reserpin 3 mg/kg 21 Uhr vor 7^3H -NA 8 Uhr	46
c) Zusammenfassung und Diskussion	48
3. Diskussion der Ergebnisse verschieden wirkender Pharmaka	52
IV. NA Stoffwechsel in Abhängigkeit von der circadianen Rhythmik	55
E ZUSAMMENFASSUNG UND DISKUSSION DER ERGEBNISSE	57
LITERATURVERZEICHNIS	62

Verzeichnis der Abkürzungen:

ACh:	Acetylcholin
AMPT:	α -Methyl-p-Tyrosin
CA:	Catecholamin(e)
COMT:	Catechol-O-Methyltransferase
DH:	Dihydroxyverbindungen
DOPA:	Dihydroxyphenylalanin
5-HT:	5-Hydroxytryptamin
MAO:	Monoaminoxydase
MH:	Methoxyhydroxyverbindungen
NA:	Noradrenalin
NM:	Normetanephrin
TYR:	Tyrosin
ZNS:	Zentralnervensystem

A EINLEITUNG

Die Aufklärung der Wirkmechanismen antidepressiv wirkender Pharmaka, wie MAO-Hemmer und trizyklischer Thymoleptika einerseits und depressionsauslösender Substanzen wie Reserpin andererseits führten zur Aufstellung der NA- und 5-HT-Hypothese der Depression. (13, 44, 55) In der Zwischenzeit sind diese Hypothesen durch klinische-biochemische Untersuchungen an manisch-depressiven Patienten gestützt worden. (Übersicht über den gegenwärtigen Stand der klinisch-biochemischen Depressionsforschung s. MATUSSEK 1972) Nach diesen Hypothesen liegt ein NA und/oder 5-HT Mangel während einer depressiven Phase im Hirn der Patienten vor, bei einer Manie handelt es sich jedoch um ein Überangebot von NA in bestimmten Strukturen des ZNS.

Einer der größten Fortschritte in der Pharmakotherapie der Depression in den letzten 10 Jahren ist die Einführung der Lithiumprophylaxe durch BAASTRUP und SCHOU (7), d. h. daß bei einer Dauermedikation mit Lithium der Ausbruch sowohl der depressiven als auch der manischen Phasen verhütet wird. Wenn der Stoffwechsel der beiden Neurohormone bei der Depression gestört sein soll, liegt es nahe, den Einfluß von Lithium auf den NA- und 5-HT-Stoffwechsel zu untersuchen.

Die Aufklärung der durch Lithium bewirkten Veränderungen im Stoffwechsel dieser Neurohormone könnte dazu beitragen, den prophylaktischen Lithiumeffekt erklären zu können. Im Vordergrund dieser Arbeit stand der Einfluß von Lithium auf den NA-Stoffwechsel. Zum besseren Verständnis der durchgeführten Untersuchungen und der Interpretation der Ergebnisse wird die Biosynthese und der Abbau von NA in der Nervenendigung kurz dargestellt.

Die Hydroxylierung von Tyrosin zu DOPA gilt als geschwindigkeitsbestimmende Reaktion in der Biosynthese von NA. (48) Als möglicher Mechanismus für die Endprodukt Hemmung, die die Syntheserate von NA reguliert, wird eine Konkurrenz von NA und Dopamin mit dem beteiligten Enzym um den Cofaktor angenommen. (31, 71)

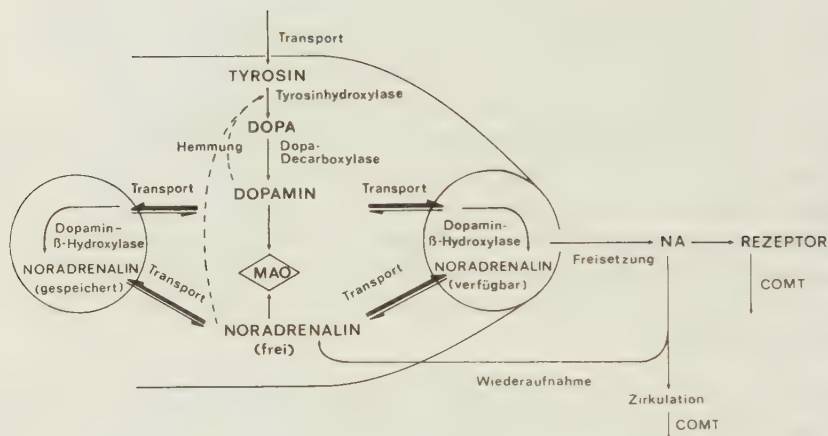


Abb. 1 MODELL DER NORADRENERGEN NERVENENDIGUNG

DOPA wird zu Dopamin. Das beteiligte Enzym decarboxyliert auch andere aromatische Aminosäuren. Den letzten Schritt, die Hydroxylierung von Dopamin zu NA, katalysiert das Enzym Dopamin- β -hydroxylase. Für diese Reaktion muß Dopamin transportiert werden. Denn das Enzym ist in den Granula lokalisiert, die der Speicherung von NA dienen. Neben einem stabilen Speicherkomplex liegen in einem Neuron andere Arten der Speicherung für NA vor. In dem stabilen Komplex sind 4 NA mit ATP und Mg^{++} assoziiert. (Übersicht über den gegenwärtigen Stand der Forschung in Handb. exp. Pharmakol. XXXIII 1972 "Catecholamines") Die Existenz von mindestens einem "labilen" Speicher für NA, der bevorzugt neu synthetisiertes aufnimmt und freisetzt, wird von verschiedenen Autoren beschrieben. (81, 59) Bei Hemmung der Biosynthese von NA sinkt die endogene NA Konzentration in dem Maße, wie NA bei der Reizleitung verbraucht und nicht nachsynthetisiert wird. Nach kompetitiver Hemmung von α -Methyl-p-Tyrosin und Tyrosin um das Enzym Tyrosin Hydroxylase wird zunächst das "labil" gespeicherte NA verbraucht. Der "stabile" Spei-

cher dagegen wird durch Reserpin angegriffen.

Der Hauptschritt bei der Inaktivierung von NA nach Reaktion mit dem Rezeptor ist die Wiederaufnahme in die Nervenzelle. Die enzymatischen Prozesse der Inaktivierung haben sekundäre Bedeutung, jedoch gibt das Verhältnis der Metaboliten von NA Aufschluß über die Aktivität des noradrenergen Systems. Die Lokalisation der beteiligten Enzyme ist bekannt. Die Desaminierung von NA wird katalysiert von dem intrazellulären Enzym MAO, während in Nachbarschaft des Rezeptors für NA die O-methylierten Verbindungen extrazellulär durch Aktivität des Enzyms COMT entstehen. (15)

B PROBLEMSTELLUNG UND ZIEL DER ARBEIT

Es ist bis heute nicht bekannt, über welche Wirkungsmechanismen chronische Lithiumgaben das Auftreten einer depressiven Phase bei sogenannten endogenen Depressionen verhindern. Dieser prophylaktische Lithiumeffekt nach chronischer Behandlung muß von der akut einsetzenden Wirkung der Lithiumtherapie in der Manie unterschieden werden. Zu Beginn dieser Arbeit wurde aus tierexperimentellen Ergebnissen hypothetisch geschlossen, daß der Stoffwechsel von NA nach akuter Lithiumgabe ähnlich wie nach Reserpin verändert wird. (57, 58) Der antimanische Effekt von akuter Lithiumgabe läßt sich biochemisch mit Zunahme der desaminierten Metaboliten von NA erklären (58) d. h. NA wird unter Lithiumeinfluß vermehrt intrazellulär von MAO abgebaut und zur Reaktion mit dem Rezeptor steht weniger NA zur Verfügung. Die prophylaktische antidepressive Wirksamkeit von Lithium kann allerdings mit dieser Hypothese nicht erklärt werden. Während bisher die meisten Stoffwechseluntersuchungen auch an Ratten am Tage, also in der Ruhephase der Tiere, durchgeführt wurden, erschien es besonders im Zusammenhang mit der NA Hypothese der Depression (s. Einleitung) wichtig, die Untersuchungen des NA Stoffwechsels in der Aktivitätsphase der Tiere, also über Nacht, durchzuführen. Schon früher wurde gezeigt, daß neben dem 5-HT- vor allem auch der NA-Gehalt im Hirn circadianen Schwankungen unterliegt. (43, 51)

Bis zum Beginn dieser Arbeit existierten keine tierexperimentellen Untersuchungen, in denen Lithium chronisch mit geeigneter Methode über längere Zeit verabfolgt wurde. Da die volle prophylaktische Lithiumwirkung bei manisch-depressiven Patienten erst nach mehreren Monaten auftritt, war notwendig, für die Untersuchung der prophylaktischen Wirkung Untersuchungen durchzuführen, die sich über mehrere Wochen erstreckten. Für chronische Lithiumgabe sind die meisten in der Pharmakologie verwendeten Applikationsarten (i.v., i.p., s.c.) nicht geeignet. Ziel der vorliegenden Arbeit war deshalb, zunächst eine Applikationsart für chronische (Wochen und Monate) Lithiumgaben an Ratten zu entwickeln, bei der es nicht zu toxischen Wirkungen kommt.

An Tieren, die chronisch mit Lithium behandelt waren, sollten dann folgende Fragen geprüft werden:

- 1) Hat chronische Behandlung mit Lithium einen Einfluß auf zyklisches Verhalten, das von NA gesteuert wird?
- 2) Ist chronische Lithiumgabe in der Lage, einen durch Pharmaka wie AMPT oder Reserpin verursachten NA Mangel und die dadurch bewirkten Verhaltensänderungen zu kompensieren?
- 3) Lassen sich die gefundenen Verhaltensveränderungen durch einen Einfluß von Lithium auf den NA Stoffwechsel erklären?
- 4) Besteht für diesen Effekt ein Unterschied zwischen der akuten und chronischen Lithiumgabe?

C MATERIAL UND METHODEN

C 1 Versuchstiere

Sämtliche Versuche wurden mit männlichen Sprague-Dawley Ratten ausgeführt (200 - 300 g). Die Tiere wurden in Gruppen zu 5 in Käfigen mit den Maßen 50 x 30 cm von 20 cm Höhe versorgt. Bei den chronischen Futtermittelsversuchen wurden die Tiere mindestens 28 Tage bei einer Raumtemperatur um 18° und den natürlichen Lichtbedingungen gehalten. Am Tage nach der Lieferung wurden die Tiere in zwei Gruppen geteilt. Die eine Gruppe erhielt Futter mit Zusatz von LiCl. Diese Tiere werden im folgenden Lithiumtiere genannt. Die andere Gruppe bestand aus Kontrolltieren. Sie wurden mit dem Standardfutter Nr. 1323 zur Haltung von Ratten und Mäusen der Fa. Altromin gefüttert. Futter und Wasser waren den Tieren beider Gruppen ad libitum erreichbar. In sämtlichen Versuchen waren die Lithiumtiere ebenso alt wie die Kontrolltiere.

C 2 Futter mit Li⁺ Zusatz

Geringe Mengen einer Lithiumverbindung sollten mit einer vergleichsweise großen Menge Rattenfutter gemischt werden. Zur besseren Verteilung sollte deshalb das Lithiumsalz in Wasser gelöst werden. Die Verwendung von Li⁺ als Carbonat schied aus praktischen Gründen wegen der schlechten Löslichkeit aus (1 g Li₂CO₃ löst sich in 80 ml H₂O). In Dänemark wurden Untersuchungen an Ratten nach i.p. Injektion von LiCl angestellt. (64, 65, 66)

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen dienten als Richtlinien für die angestrebte orale Verabreichung von Li⁺. Das Standardfutter wurde deshalb mit LiCl Zusatz präpariert. Dazu wurde das Standardfutter manuell fein zerkleinert und mit einer Lösung von LiCl in wechselnden Konzentrationen in 200 ml H₂O gleichmäßig übersprüht. In 1 kg Futter wurden 0,85 g, 1,2 g oder 1,7 g LiCl eingearbeitet, was einem Zusatz von 20, 30 oder 40 mval LiCl/kg Futter entspricht. Mit der Hand wurden aus dem mit einer LiCl Lösung versetzten Futter Brocken geformt, die bei 35° im Trockenschrank getrocknet wurden. Dies Fut-

ter erhielten die Lithiumtiere ad libitum. Bei den Versuchen, in denen die Konzentration gesucht wurde, in der LiCl dem Futter zugesetzt werden sollte, erfolgte täglich Gewichtskontrolle der Tiere und des Futters, später 2 x wöchentlich.

C 3 Lithium Bestimmung

Zur Bestimmung der Li^+ Konzentration im Serum wurden die Tiere entweder morgens um 9 Uhr oder abends um 18 Uhr durch Dekapitation getötet. Das aus der Halsvene austretende Blut wurde gesammelt und zur Bestimmung verwendet. Die flammenfotometrische Bestimmung von Li^+ erfolgte nach DOERR u.a.. (24)

C 4 Circadianer Rhythmus der motorischen Aktivität

Vor den Verhaltensversuchen wurden die Tiere für mindestens 12 Stunden an die im Versuchsraum herrschenden Bedingungen angepaßt. Der Versuchsraum war völlig verdunkelt. Das Licht schaltete automatisch um 7 Uhr ein und wurde automatisch um 19 Uhr ausgeschaltet. Die motorische Aktivität von Lithiumtieren und Kontrolltieren wurde mit zwei "Animex" Geräten aufgezeichnet. (75) Unmittelbar auf jedem "Animex" Gerät stand ein den Maßen des Gerätes entsprechender Tierkäfig. Da die Empfindlichkeit der "Animex" Geräte mit zunehmender Isolierung abnimmt, war die Einstreu in sämtlichen Versuchen standardisiert, sie bestand in allen Versuchen aus 400 ml Sägemehl. Jeder Versuch wurde mit 2 Lithium- und 2 Kontrolltieren ausgeführt. Zwei Tiere jeder Gruppe wurden zu Versuchsbeginn in die bei der Registrierung der motorischen Aktivität verwendeten Käfige gesetzt. Die ersten 4 Stunden jeder Messung wurden nicht in der Auswertung berücksichtigt. Diese Zeit galt als Adaptionszeit der Tiere an die neue Umgebung. Die Einstreu in den Tierkäfigen wurde nur gewechselt, wenn die Registrierung der motorischen Aktivität länger als 48 Stunden erfolgte. Die "Animex" Geräte standen nebeneinander und die motorische Aktivität von Lithiumtieren und Kontrolltieren wurde in jedem Versuch simultan aufgenommen. Die Addition der durch ein "Animex" Gerät registrierten Aktivitätsimpulse erfolgte automatisch über einen Sudeco Zähler im Nebenraum, die Summen wurden stundenweise ausgedruckt. Auf diese Weise

entstanden einfach auszuwertende Kontrollstreifen, die es ermöglichen, den gleichen Versuch mit anderen Tieren zu wiederholen und die motorische Aktivität von Tieren beider Gruppen untereinander und die beiden Gruppen gegeneinander zu vergleichen.

C 5 Drogenapplikation

a) Reserpin

Reserpin wurde von Fa. Boehringer, Mannheim, als Sedaraupin^R Ampullen 1 mg/ml zur Verfügung gestellt. Lithiumtieren und Kontrolltieren wurde Sedaraupin^R als s.c. Injektion zu verschiedener Tageszeit und in verschiedener Dosierung verabreicht. Subcutane Injektion führt mit größerer Sicherheit als intraperitoneale Injektion zu einer gleichmäßigen Verteilung der Droge, wenn das Lösungsmittel und der Arzneistoff eine Resorption des Arzneistoffs garantieren. Die Konzentration an Reserpin war in den Sedaraupin^R Ampullen mit 1 mg/ml groß genug, daß den Ratten auch bei der höchsten verwendeten Dosis weniger als 2 ml injiziert werden mußte. Als Faustregel gilt, daß die Wirkung eines Arzneistoffes nur dann untersucht werden kann, wenn das injizierte Volumen, das den Arzneistoff enthält, 1/10 des Körpergewichtes des Versuchstieres nicht überschreitet. Bei einem größeren Volumen muß damit gerechnet werden, daß andere Faktoren sich zu der Wirkung des Pharmakons addieren.

b) H 44/68

An Stelle der in Wasser schwer löslichen Aminosäure α -Methyl-p-Tyrosin steht seit 1966 der leicht wasserlösliche Methylester als Hydrochlorid zur Verfügung. (H 44/68 Hässle Ltd. Schweden) Im Organismus wird er durch Esterasen hydrolysiert. (20) Die nach H 44/68 einsetzende Abnahme von Catecholaminen verläuft zeitlich und quantitativ ebenso wie nach Gabe von α -Methyl-p-Tyrosin (3), so daß die Wirkung von H 44/68 eher auf die abgespaltene Aminosäure als auf den Ester zurückgeführt werden muß. H 44/68 wurde jeweils frisch vor Versuchsbeginn in der Konzentration 100 mg/ml in Wasser gelöst.

C 6 Bestimmung von endogenem NA

Nach Dekapitation eines Tieres und Öffnen der Schädelkalotte wurde das Gesamthirn herauspräpariert. Das Kleinhirn wurde abgetrennt und verworfen. Die Bestimmung von NA erfolgte nach der von CHANG (16) beschriebenen Methode in der Modifikation von MAICKEL u. a. (42). Die Gesamthirne wurden in salzsaurem Butanol homogenisiert und nach Zentrifugation wurden Aliquote der Überstände mit Heptan und HCl gemischt. Die wäßrige Phase enthielt NA als Hydrochlorid und die bei der Bestimmung von NA störenden Begleitsubstanzen wurden mit der organischen Phase abgetrennt und verworfen. Nach Zusatz von Puffersubstanzen erfolgte die Oxydation von NA zur fluoreszierenden Trihydroxyindolverbindung. Die Fluoreszenz wurde in einem Spektralfluorimeter (Zeiss PMQ 2) unter Verwendung von 1 ml Quarzküvetten bei den Wellenlängen 390 nm (anregend) und 490 nm (Fluoreszenz) abgelesen.

C 7 Bestimmung von NA nach Vorbehandlung mit H 44/68

Eine Modifikation der von CHANG (16) beschriebenen Methode führte zu reproduzierbaren Ergebnissen. NA wurde von Begleitsubstanzen durch Adsorption an Al_2O_3 abgetrennt. Das verwendete Aluminiumoxyd Woelm wurde wie bei UDENFRIEND (77) beschrieben mit HCl gekocht und bis zur neutralen Reaktion gewaschen. Nach Homogenisation der Hirne mit HClO_4 und anschließender Zentrifugation wurden Aliquote der Überstände nach Zugabe von Puffersubstanz mit Al_2O_3 gemischt. Die Mischung wurde in Glasröhrchen - 3 cm Höhe, 0,5 cm Weite - mit Glasfritteneinsatz G 2 Schott u. Gen. gebracht und NA wurde mit 0,2 N CH_3COOH eluiert. Die weitere Bestimmung von NA erfolgte aus 0,5 ml des Eluats durch Oxidation mit Jodlösung nach MAICKEL (42) zum fluoreszierenden Noradrenochrom.

C 8 Intracisternale Injektion von 7^3H -NA und Präparation der Stammhirne

Bei der Markierung der endogenen Speicher für NA durch 7^3H -NA sollte Anwendung von Narkose vermieden werden, damit ein zusätzli-

cher Effekt durch das Anästheticum ausgeschlossen werden konnte. Deshalb mußte die intracisternale Injektion von 7^3H -NA von 2 Personen vorgenommen werden. Eine Person brachte ein nicht anästhesiertes Tier in eine Position der Art, daß der Kopf des Tieres mit dem Rumpf einen spitzen Winkel bildete. Die zweite Person konnte nun die Cisterna magna des Tieres ertasten und die Injektion vornehmen. Bei geübten Personen dauerte diese Manipulation maximal 1 Minute. Tiere, die 2 Minuten nach der Injektion unnatürliche, meist asymmetrische Bewegungen zeigten, wurden sofort getötet. Im weiteren Verlauf der Experimente wurden nur solche Tiere verwendet, deren Verhalten keine Auffälligkeiten zeigte.

2 Stunden nach Gabe von 7^3H -Na wurden die Tiere durch Dekapitation getötet. Nach Öffnen der Schädelkalotte wurden die Hirne herausgenommen und in der von LADISICH et al. (39) beschriebenen Weise präpariert. Zunächst wurden die Hemisphären rostral durch 2 Schnitte von der Vierhügelplatte abgetrennt. Von der ventralen Oberfläche her wurden dann Schnitte zum Corpus callosum hin um den Hypothalamus und das Chiasma opticum herumgeführt.

Kleinhirn und die abgetrennten Hemisphären wurden verworfen. Die auf diese Weise isolierten Stammhirne wurden sofort in eiskalter HClO_4 homogenisiert und anschließend klar zentrifugiert. Die weitere Aufarbeitung der Stammhirne und die dünnschichtchromatographische Trennung von 7^3H -NA erfolgte in Anlehnung an die von GIESE et al. in diesem Labor entwickelte Methode. (25)

C 9 Bestimmung von 7^3H -NA und Metaboliten

Nach Homogenisation und Zentrifugation der Stammhirne enthielt der perchlorsaure Überstand die CA teils frei, teils gekoppelt. Die Hydrolyse der Catecholaminverbindungen erfolgte durch Einstellen der Überstände für 20 Minuten in kochendes Wasser. Nach dem Abkühlen wurde in Aliquoten einer jeden Probe die Radioaktivität in einem Scintillationszähler (Tri-Carb Spectrometer, Packard) gemessen. Von diesem Schritt an bearbeiteten wir nur solche Proben weiter, deren Radioaktivität annähernd vergleichbar war. In jeder Probe wurde zur Stabilisierung der CA durch Zugabe von KOH genau $\text{pH} = 2,5$ eingestellt. Damit fielen auch die bei der Chromatographie störenden ClO_4^- Ionen

aus. Bis zu diesem Schritt erfolgte die Aufarbeitung der Stammhirne im Anschluß an die intracisternale Injektion bzw. Dekapitation der Tiere. Die Proben konnten nun bis zur Chromatographie eingefroren werden.

Die exakteste Trennung von NA und den Metaboliten gelang auf Zelluloseplatten (MN 300), die im Labor nach STAHL (72) hergestellt wurden. Die an der Luft getrockneten Zelluloseplatten wurden vor der Chromatographie für 30 Minuten in den das Laufmittel enthaltenden Kammern in der Weise aktiviert, daß sie mit dem Dampf des Lösungsmittels gesättigt wurden. Ein modifiziertes Partridge-Gemisch bewirkte eine zufriedenstellende Trennung von NA und seinen Metaboliten. (Butanol: Eisessig = 100 : 35) Zur Chromatographie wurden 200 μ l einer Probe mit je 10 μ l einer methanolischen Lösung (1 mg/ml) folgender Referenzsubstanzen gemischt: Noradrenalin, Normetanephrin, Dihydroxyphenylglycol, Dihydroxymandelsäure, Methoxyhydroxyphenylglycol, Methoxyhydroxymandelsäure. Diese Mischung von Probe und Testsubstanzen wurde in einem 7 cm langen Streifen in Streichrichtung der Zellulose auf die Platte aufgetragen. Bei Raumtemperatur stieg das Laufmittel in 15 - 20 Minuten 1 cm. Bei einer Entfernung der Laufmittelfront zum Start von 12 cm wurde die Chromatographie als beendet angesehen. Durch Besprühen der Randzonen einer jeden Probe mit p-Nitranilin erschienen die Testsubstanzen als blauviolette Streifen. Die nicht besprühte Zellulose wurde nach den angefärbten Randzonen in die verschiedenen Fraktionen aufgeteilt, dabei faßten wir die Dihydroxy- und die Methoxyhydroxyverbindungen als je 1 Fraktion zusammen. Die Zellulose einer jeden Zone wurde quantitativ in Zählgläschen übergeführt, deren Lösung mit thixotropem Gel versetzt war. Die Menge der Radioaktivität jeder Fraktion bestimmten wir mit einem Scintillationszähler. (Tri-Carb Spectrometer, Packard)

D ERGEBNISSE

D I. Chronische Lithiumbehandlung

Zuerst wurde versucht, Lithiumchlorid dem Trinkwasser von Ratten beizugeben und auf diese Weise Ratten zu einer regelmäßigen Aufnahme von Li^+ zu veranlassen. Versuche in diesem Labor hatten ergeben, (N. MATUSSEK, unveröffentlicht) daß bei Verabreichung von Li^+ mit dem Trinkwasser eine einheitliche Dosierung nicht einzuhalten war. Die als Folge der Li^+ Behandlung auch bei Ratten zu beobachtende Polyurie und Polydipsie führte zu einem unkontrollierbaren Verbrauch an Trinkwasser. Bei fortschreitender Entwicklung von Polydipsie nahm der Verbrauch an Trinkwasser zu. Die mit dem Trinkwasser aufgenommene Menge an Li^+ stieg täglich und führte nach kurzer Zeit zu toxischen Erscheinungen, die sich in starker Gewichtsabnahme der Ratten äußerten. Aus diesem Grunde prüften wir, in welcher Konzentration LiCl dem Futter von Ratten zugesetzt werden muß, damit die chronische Verabreichung von Li^+ regelmäßig und täglich ohne zusätzliche Belastungen der Tiere erfolgen konnte.

D I 1. Gewichtsveränderung

Kontrolle von Normaltieren ergab, daß 200 - 300 g schwere Tiere in 24 Stunden etwa 30 g Futter aufnehmen, in 28 Tagen nahmen sie etwa 25 % des Körpergewichtes bei Versuchsbeginn zu. Wir mußten herausfinden, in welcher Konzentration Li^+ im Futter von Ratten enthalten sein darf, damit die resultierende Serumkonzentration eben noch von Ratten toleriert wird. Die prophylaktische Wirksamkeit der Li^+ Medikation scheint bei Menschen nahe der toxischen Grenze zu liegen, für Ratten wird dieser kritische Bereich um 1 mval/l im Serum nach i.p. Injektion angegeben. (64) Zu Beginn unserer Experimente lag eine Untersuchung vor, die nach i.p. Injektion von 3 mval LiCl/kg Ratte über das Auftreten von toxischen Erscheinungen berichtet. (64) Wir setzten dem Standardfutter der Ratten, wie bei Material und Methoden beschrieben, LiCl in verschiedenen Konzentrationen zu. Gewichtsveränderung und Futteraufnahme der mit diesem Futter versorgten Tiere wurden kontrolliert und die Konzentration an Li^+ im

Serum dieser Tiere wurde bestimmt. (Abb. 2, Abb. 3)

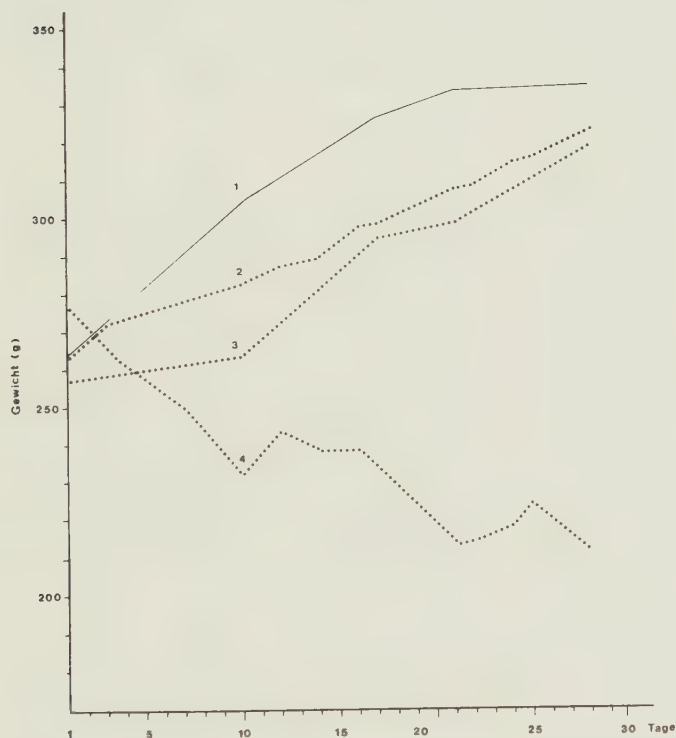


Abb. 2 GEWICHTSVERÄNDERUNG UNTER LITHIUMFUTTER

- 1: Kontrolltiere (5)
- 2: 20 mval LiCl/kg Futter (3)
- 3: 30 mval LiCl/kg Futter (5)
- 4: 40 mval LiCl/kg Futter (3)

Anzahl der Tiere in Klammern

Die unter Normalbedingungen einsetzenden Veränderungen galten dabei als Richtlinie für die Veränderungen, die durch Futter mit LiCl Zusatz herbeigeführt werden. In Abb. 2 sind die Gewichtsveränderungen in 28 Tagen aufgetragen, die bei Kontrolltieren und bei Tieren gefunden wurden, die Futter mit LiCl Zusatz in verschiedenen Konzentrationen erhielten. Alle Tiere wogen bei Beginn der Experimente 250 - 290 g.

D I 1 a. Zusatz von 20 mval LiCl/kg Futter

Unter der Voraussetzung, daß Ratten von einem Futter mit LiCl Zusatz die gleiche Menge wie von dem Standardfutter fressen, nimmt eine Ratte mit mittlerem Körpergewicht (250 g) in 30 g Futter in 24 Stunden 2,4 mval LiCl/kg Körpergewicht auf. Nach i.p. Injektion von 3 mval LiCl/kg über 7 Tage traten bei Ratten toxische Erscheinungen auf. (64) Wir stellten fest, daß LiCl Zusatz im Futter zu einer gegenüber Kontrolltieren verringerten Futteraufnahme führte. Von diesem Futter fraßen die Tiere um 23 g in 24 Stunden. In Tab. 1 ist der mittlere Futterverbrauch von 3 Tieren in 28 Tagen eingetragen. Die aus dem täglich gewogenen Futterverbrauch errechnete aufgenommene Menge an LiCl ist aus der Nebenspalte ersichtlich. In 28 Tagen nahmen die mit diesem Futter versorgten Tiere etwa 23 % zu.

D I 1 b. Zusatz von 30 mval LiCl/kg Futter

Die Tiere fraßen von diesem Futter etwa 20 g in 24 Stunden. Tab. 1 gibt den mittleren Futterverbrauch von 5 Tieren in 28 Tagen wieder. Nach 8 Tagen lag die Futteraufnahme stets bei 23 g, sie entspricht einer Aufnahme von LiCl von 2,5 - 3 mval/kg Ratte. In 28 Tagen nahmen diese Tiere etwa 20 % zu. Einzelne Tiere hatten vorübergehend einen stärkeren Verbrauch an Trinkwasser als Kontrolltiere. Polyurie war nur vereinzelt und kurzfristig zu beobachten, eine Normalisierung war bei allen Tieren nach längstens 20 Tagen eingetreten.

Tabelle 1

Aufnahme von Futter mit LiCl Zusatz

Tag	20 mval LiCl		30 mval LiCl		40 mval LiCl	
	a	b	a	b	a	b
2	22	0,44	14	0,42	15	0,6
3	22	0,44	18	0,54	15	0,6
4	18	0,36	16	0,48	12	0,48
5	21	0,42	17	0,51		
6	23	0,46	19	0,57	10	0,4
7	23	0,46	18	0,54	11	0,44
8	22	0,44	20	0,60	11	0,44
9	23	0,46	26	0,78	13	0,52
10	25	0,5	22	0,66	15	0,6
11	22	0,44	24	0,72	15	0,6
12	23	0,46	23	0,69	20	0,8
14	23	0,46	24	0,72		
15	23	0,46	22	0,66	18	0,72
16	22	0,44	24	0,72	12	0,48
17	21	0,42	23	0,69	20	0,8
18	23	0,46	22	0,66	15	0,6
19	22	0,44	20	0,60	13	0,52
20	21	0,42	23	0,69		
21	26	0,52	19	0,57	15	0,6
22	23	0,46	23	0,69	18	0,72
23	25	0,5	23	0,69	10	0,4
24	24	0,48	24	0,72	12	0,48
25	25	0,5	22	0,66	20	0,8
26	23	0,46	23	0,69	23	0,92
27	21	0,42	22	0,66	18	0,72
28	24	0,48	24	0,72	14	0,56

Mittlerer Futterbedarf in 24 Stunden von 5 (30 mval LiCl/kg) bzw. 3 (20, 40 mval LiCl/kg) Tieren. Die aufgenommene Menge an Futter berechnet sich aus der Differenz zu der am Tage zuvor gewogenen Futtermenge.

a: verzehrte Futtermenge in g/Tier/Tag

b: aufgenommene Lithiummenge in mval/Tier/Tag

DI 1 c. Zusatz von 40 mval LiCl/kg Futter

Von diesem Futter fraßen die Tiere nur etwa 15 g in 24 Stunden und nahmen damit etwa 0,6 mval LiCl auf. Aus Abb. 2 ist zu ersehen, daß dieses Futter zu starker Gewichtsabnahme der Ratten führte, in den ersten 10 Tagen verlief diese Abnahme am steilsten. In 28 Tagen nahmen diese Tiere etwa 20 % ab. Aus unseren Experimenten war nicht zu entscheiden, ob die Reduktion des Körpergewichtes auf eine gegenüber Kontrolltieren verminderte Nahrungsaufnahme (50 % der Aufnahme von Kontrolltieren) oder auf toxische Auswirkungen von Li^+ zurückgeführt werden muß. Der Verbrauch an Trinkwasser dieser Tiere war etwa 5mal höher als der von Kontrolltieren

DI 2. Bestimmung von Li^+ im Serum der Ratten

Die Konzentration an Li^+ im Serum nach Aufnahme mit dem Futter erwarteten wir am höchsten, wenn das Blut zur Bestimmung morgens gewonnen wurde. Nach oraler Aufnahme erreicht die Li^+ Konzentration im Serum innerhalb von 2 Stunden ein Maximum und sinkt dann allmählich (67). Die Bestimmung von Li^+ im Serum von Ratten, die 20 mval LiCl/kg Futter erhielten, erfolgte von Tieren, die morgens um 9 Uhr getötet wurden. Die Li^+ Konzentration wurde mit 0,25 - 0,6 mval/l bestimmt. Im weiteren Verlauf der Experimente konzentrierten wir uns darauf, die Li^+ Konzentration im Serum vor erneuter Lithiumaufnahme zu bestimmen. Da die Experimente zur Untersuchung des NA Stoffwechsels bei Lithiumvorbehandlung nachts, in der Aktivitätsphase von Ratten, vorgenommen werden sollten, wurde die zu Beginn der Experimente um 18 Uhr vorliegende Li^+ Konzentration ermittelt. In Abb. 3 sind die Mittelwerte von 3 - 6 Bestimmungen von Tieren aufgetragen, die 30 mval LiCl/kg Futter erhielten und um 18 Uhr getötet wurden.

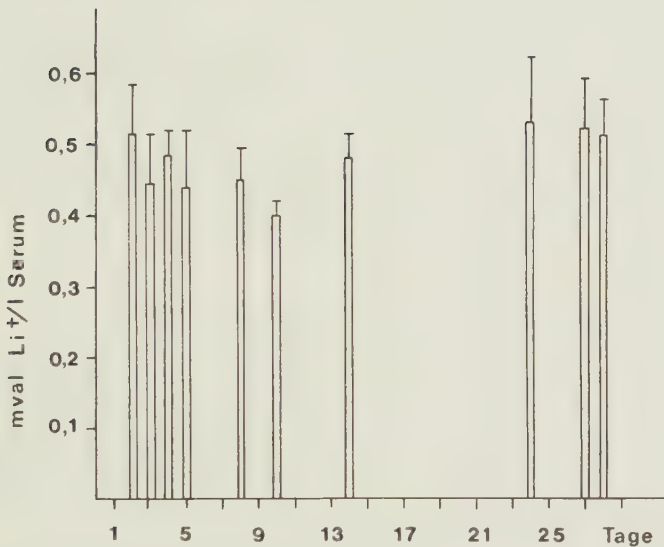


Abb. 3 LITHIUM IM SERUM

Mittelwerte und Standardabweichungen der Li^+ Konzentration im Serum von Ratten (3 - 6 Bestimmungen) Dekapitation um 18 Uhr.

Ordinate: mval Li^+ /l Serum

Abszisse: Zeit in Tagen, in der Ratten mit 30 mval LiCl /kg Futter behandelt wurden.

Die Li^+ Konzentration lag zwischen 0,4 und 0,6 mval/l. Sie wurde erwartungsgemäß geringfügig höher bei 0,6 - 0,8 mval/l gefunden, wenn die Tiere morgens um 9 Uhr getötet wurden. Im Serum der Tiere, die 40 mval LiCl /kg Futter erhielten, wurde die Konzentration an Li^+ nach 3 - 10 Tagen zwischen 0,9 - 1,32 mval/ Li^+ /l bestimmt.

Die Ergebnisse unserer Experimente mit Zusatz von 20, 30 und 40 mval LiCl/kg Futter zeigten, daß für chronische Verabreichung von LiCl mit dem Futter der Zusatz von 30 mval LiCl/kg Futter am sinnvollsten war. Die toxischen Auswirkungen waren, wenn sie überhaupt auftraten, vorübergehend. Der Li^+ Spiegel im Serum der mit 20 mval LiCl/kg Futter versorgten Tiere war zu gering. 40 mval LiCl/kg Futter hatte für chronische Gabe zu starke Nebenwirkungen. Wir beauftragten die Herstellerfirma, das von uns verwendete Standardfutter zur Haltung von Ratten und Mäusen für unsere weiteren Experimente mit LiCl Zusatz zu präparieren. LiCl wurde von uns zur Verfügung gestellt und die jeweils einzuarbeitende Menge wurde von uns bei der Bestellung des Futters angegeben. Lithiumtiere wurden mindestens 28 Tage mit diesem Futter vorbehandelt.

D I 3. Zusammenfassung und Diskussion der Futterversuche

Die therapeutische Breite der Lithiumverbindungen ist außerordentlich gering. SCHOU et al. (62) berichteten von ihrer Beobachtung, daß bei Menschen die Behandlung mit Lithium erst dann erfolgreich zu sein scheint, wenn die toxische Konzentration, Li^+ im Serum bestimmt, eben noch nicht erreicht wird. Der prophylaktische antidepressive Effekt tritt erst auf, wenn Lithium regelmäßig und täglich über längere Zeit eingenommen wird. (7) Für unsere Experimente mußte herausgefunden werden, in welcher Konzentration Li^+ dem Futter von Ratten zugesetzt werden muß, damit das Futter ohne toxische Symptome vertragen wird. Die Plasmakonzentration an Li^+ nahe der toxischen Grenze, die von Ratten bei chronischer Gabe von Li^+ eben noch toleriert wird, mußte ebenfalls gefunden werden. In unseren Versuchen, in denen LiCl in 3 verschiedenen Konzentrationen dem Futter von Ratten zugesetzt wurde, vertrugen Ratten die mittlere Konzentration von 30 mval LiCl/kg Futter.

Aus unseren Experimenten ging hervor, daß bei chronischer Verabreichung von LiCl an Ratten mit dem von uns verwendeten Futter eine tägliche Dosis von 0,5 - 0,7 mval LiCl nicht überschritten werden sollte. (Tab. 1) Dieses Ergebnis wurde von einer 1969 nach Beginn dieser Arbeit veröffentlichten Untersuchung bestätigt, in der

Ratten mit dem Futter LiCl aufnehmen. (21) Die Serum Konzentration an Li^+ wird in dieser Publikation ebenso wie die Gewebeskonzentration im Hirn dieser Tiere mit 0,5 - 1,5 mval/l bzw. kg angegeben. Die Autoren dieser Untersuchung berichteten auch über den Versuch, LiCl dem Trinkwasser von Ratten beizugeben. Ihre Beobachtungen decken sich mit unseren. Steigender LiCl Zusatz im Futter führte in unseren Experimenten zu verminderter Futteraufnahme von Ratten. Dieser Effekt, der bis heute nicht beschrieben wurde, erforderte sorgfältige Analyse der täglich aufgenommenen Futtermenge der Tiere. Der Tagesbedarf an Futter (Altromin 1323) wurde für die von uns verwendeten Tiere um 20 g bestimmt. Bis heute sind zwei Arbeiten bekannt geworden, in denen Ratten LiCl mit dem Futter erhielten. Die täglich aufgenommene Menge und die Zusammensetzung des Futters wird entweder nicht erwähnt (61) oder die Zusammensetzung des Futters unterscheidet sich erheblich von unserem. (21) Bei einer Tagesdosis von 0,4 - 0,5 mval LiCl wird die resultierende Li^+ Konzentration im Serum der Ratten mit Schwankungen (0,5 - 1,5 mval/l) angegeben, die bei den von uns verwendeten Tieren bereits zu toxischen Erscheinungen führte. (21) Die Verträglichkeit von Li^+ steigt, wenn gleichzeitig die Na^+ Zufuhr erhöht wird. (64) Allerdings zeigten einige der Tiere der Untersuchung von CORRODI et al. (21) nach 3 Wochen Polyurie und Diarrhoe. Tiere, die in unseren Experimenten längere Zeit 40 mval LiCl/kg Futter bekamen, entwickelten irreversible Schäden, die nach i. p. Injektion von 3 mval LiCl/kg Ratte beschrieben wurden. (64) In einer Untersuchung über die Toxizität von Li^+ traten irreversible Schäden bei zusätzlicher Gabe von NaCl erst bei höherer Dosierung von LiCl auf. Das von uns verwendete Futter enthielt Na^+ in einer Konzentration, (3,1 g in 100 g) die als ausreichender Schutz vor toxischen Wirkungen von Li^+ anzusehen ist. Mit 20 g Futter nahmen die Ratten in unseren Experimenten etwa 27 mval Na^+ auf.

Kürzlich wurde eine Untersuchung veröffentlicht, (61) in der 10 und 20 ml einer 2 N LiCl Lösung/kg Rattenfutter zugesetzt wurden. Da in den Experimenten der vorliegenden Arbeit die gleiche Konzentration an LiCl (20 und 40 mval LiCl/kg) zu nicht befriedigenden Resultaten führte, wäre ein Vergleich mit diesen Daten interessant. Leider geht

aus der Veröffentlichung nicht hervor, wieviel Futter eine Ratte/Tag aufnimmt. Die über 7 Tage aufgezeichneten Gewichtsveränderungen der Tiere stimmen allerdings weitgehend mit den Werten unserer Experimente überein. Die Li^+ Konzentration im Plasma der Tiere wird mit 0,7 mval/l (nach 20 ml 2 N LiCl/kg Futter) bzw. mit 0,4 mval/l (nach 10 ml 2 N LiCl/kg Futter) angegeben. (61) Nebenwirkungen, die auch in unseren Experimenten bei Zusatz von 40 mval LiCl/kg Futter auftraten, werden bei höherer Li^+ Konzentration im Serum von Ratten beschrieben. (73)

Nach unseren Erfahrungen mit Zusätzen von LiCl zum Futter von Ratten sollte außer der täglich aufgenommenen Menge an Futter auch die darin enthaltene Na^+ Konzentration angegeben werden, damit sich verschiedene Untersuchungen vergleichen lassen. Außerdem sollte vermerkt werden, welche Zeitspanne zwischen der letzten Futteraufnahme und der Entnahme von Blut liegt, in dem Li^+ bestimmt wird. Unsere Experimente lassen darauf schließen, daß nach chronischer ebenso wie nach akuter Gabe (65) Lithium von Ratten rasch ausgeschieden wird. Morgens, kurz nach der letzten Futteraufnahme, fanden wir um 0,7 mval Li^+ /l Serum, während abends, 11 Stunden nach der letzten Futteraufnahme, um 0,5 mval Li^+ /l bestimmt wurden. (Abb. 3) Unser Interesse galt der aktuellen Li^+ Konzentration im Serum der Tiere kurz vor Beginn der Experimente, in denen der Stoffwechsel von NA unter Li^+ Einfluß untersucht wurde.

Aus Abb. 3 wird deutlich, daß die Li^+ Konzentration im Serum von Ratten bereits nach 2 Tagen, in denen die Tiere ein Futter mit LiCl Zusatz gefressen haben, eine Höhe erreichte, die auch nach länger dauernder Gabe von LiCl gefunden wurde. Eine Akkumulation von Li^+ im Organismus schien demnach nicht stattzufinden. Die Verteilung von Li^+ zwischen Gewebe und Serum wurde verschiedentlich untersucht. Nach einmaliger i. v. Gabe von LiCl erreicht die Konzentration an Li^+ nach 48 Stunden den höchsten Wert im Hirn von Ratten, während in anderen Geweben, wie Muskel, Leber und Niere zu dieser Zeit bereits ein Abfall gemessen wird. (66) Durch chronische i. p. Gabe von LiCl über 9 Tage ändert sich die Verteilung von Na^+ und K^+ in Gewebe und Serum nicht. (50) Unter chronischer Lithiumbehand-

lung ist nach 7 - 8 Tagen bei Menschen Gewebssättigung eingetreten.

Wir beobachteten bei Tieren, die 30 mval LiCl/kg Futter erhielten, daß die vereinzelt zu beobachtenden Nebenwirkungen von Li^+ wie Polyurie und Polydipsie nur vorübergehend auftraten. SCHOU hatte den gleichen Effekt bei Patienten beschrieben, die in der Klinik mit Li^+ behandelt wurden. (63) Er schloß aus seinen Beobachtungen, daß eine Adaption des Organismus an die Nebenwirkungen von Li^+ einsetze, die den therapeutischen Effekt der gleichen Dosis jedoch nicht beeinflusse.

D II. Einfluß chronischer Lithiumbehandlung auf die circadiane lokomotorische Aktivität

Die "normothymotischen" Eigenschaften der Lithiumverbindungen bei Menschen werden hervorgehoben und gegen die sedierenden Wirkungen der meisten heute gebräuchlichen Psychopharmaka abgegrenzt, die auch bei gesunden Versuchspersonen auftreten. (7) Nach akuter Lithiumgabe wurde vereinzelt eine vorübergehende Sedation von Versuchstieren beschrieben. (28, 67) Der Einfluß chronischer Lithiumgaben auf die spontane motorische Aktivität ist bis heute nicht untersucht. Die Therapie und Prophylaxe mit Lithiumsalzen ist nach klinischen Berichten vor allem bei Zykllothymien erfolgreich. Als eine zyklisch verlaufende Verhaltensveränderung, die eng mit dem Antrieb korreliert ist und unter geeigneten Bedingungen stabil abläuft, kann der Tag-Nacht-Rhythmus von Ratten gesehen werden. Die lokomotorische Aktivität von Lithiumtieren und Kontrolltieren wurde simultan über 12 Stunden bei Licht und 12 Stunden bei Dunkelheit aufgezeichnet. (Abb. 4)

Bei Lithiumtieren folgte auf eine Phase mit geringer motorischer Aktivität bei Licht eine Aktivitätsphase bei Dunkelheit ebenso wie bei Kontrolltieren. Allerdings wurden von Lithiumtieren durchwegs weniger Aktivitätsimpulse registriert als von Kontrolltieren.

Aus Abb. 4 wird deutlich, daß die motorische Aktivität von Tieren beider Gruppen mit Beginn der Dunkelheit um 19 Uhr stark zunahm,

während der Dunkelheit anhielt und beim Einschalten des Lichtes um 7 Uhr abgefallen war. In der Ruhephase von 7 - 19 Uhr registrierten die "Animex" Geräte beträchtlich weniger Aktivitätsimpulse als in der Dunkelheit von beiden Gruppen.

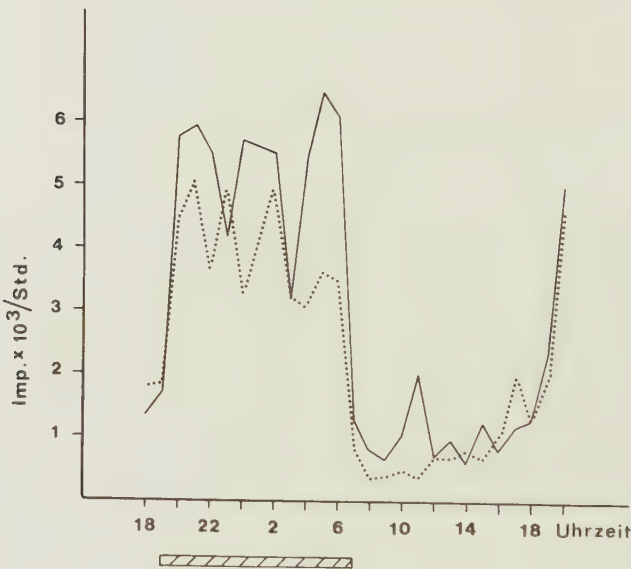


Abb. 4 CIRCADIANTER RHYTHMUS

Motorische Aktivität von Lithiumtieren (.....) und Kontrolltieren (—) in 24 Stunden. Mittelwerte von je 4 Versuchen.

Dunkelheit: 

Ordinate: mit "Animex" registriert
Impulse $\times 10^3$ /Stunde.

Aus Abb. 4 geht weiterhin hervor, daß sowohl bei Licht wie bei Dunkelheit die motorische Aktivität von Lithiumtieren geringer war als

von Kontrolltieren.

Die motorische Aktivität der Kontrolltiere läßt in der graphischen Darstellung 3 Gipfel erkennen. Alle 4 Stunden nach Einsetzen der Dunkelheit um 19 Uhr wurde um 23 Uhr, um 3 Uhr und um 7 Uhr ein Tiefpunkt der motorischen Aktivität erreicht. Um 21 Uhr erreichte die motorische Aktivität der Kontrolltiere den ersten Gipfel. Der zweite, etwas flachere, lag zwischen 24 und 2 Uhr. Vor Beginn der Ruhephase stieg die motorische Aktivität bei den Kontrolltieren noch einmal auf die höchsten Werte an, die in der gesamten Aktivitätsphase registriert wurden.

Aus. Abb. 4 ist ersichtlich, daß die motorische Aktivität der Lithiumtiere nicht dieser Regelmäßigkeit gehorchte. Auch bei Lithiumtieren wurde ebenso wie bei Kontrolltieren mit Beginn der Dunkelheit eine starke Zunahme der motorischen Aktivität aufgezeichnet. Die Zusammenfassung von 4 Versuchen zeigt den ersten Aktivitätsgipfel um 21 Uhr. Dieser Gipfel um 21 Uhr ließ sich in allen Versuchen bei Lithium- und Kontrolltieren finden. Im Laufe der Nacht streuten die Werte der von den "Animex" Geräten registrierten Aktivitätsimpulse bei den Lithiumtieren stärker als bei Kontrolltieren um die Mittelwerte jeder Stunde. In der Zusammenfassung von 4 Versuchen läßt sich bei Lithiumtieren die geringere Ausprägung des Aktivitätsgipfels zwischen 4 und 6 Uhr erkennen, der bei Kontrolltieren außerordentlich stark betont war.

D III. Einfluß von Pharmaka auf die beiden NA Speicher

NA wird in verschiedener Weise in einem Neuron gespeichert. (s. Einleitung) Der "labile" NA Speicher mit höherer Umsatzrate als der "stabile" wird bevorzugt von Hemmung der Biosynthese betroffen. Das Enzym Tyrosin Hydroxylase unterliegt einer kompetitiven Hemmung von α -Methyl-p-Tyrosin (AMPT) mit Tyrosin und die Biosynthese der CA wird an dieser Stelle blockiert. Der Mechanismus der Wirkung von AMPT wurde 1965 detailliert untersucht. (70) Die aus Hemmung der Biosynthese resultierende Abnahme an NA ist 8 Stunden nach Gabe von AMPT am größten. (70, 3) "Falsche Transmitter" wie α -Metyldopa und die Folgeprodukte entstehen nicht aus

AMPT (78, 37), so daß die NA Abnahme allein auf Biosynthesehemmung zurückgeführt werden kann.

Auch die Reserpinwirkung kann nicht interpretiert werden, wenn nicht mindestens 2 unterschiedlich auf Reserpin reagierende NA Speicher in einem Neuron vorliegen. (32) Wir untersuchten deshalb, ob chronische Lithiumbehandlung die Wirkung beider verschieden angreifender Pharmaka verändert.

D III 1. Einfluß auf den labilen Speicher

Die Aufzeichnung der motorischen Aktivität von Tieren beider Gruppen hatte gezeigt, daß auch nach chronischer Gabe von Lithium der Wechsel zwischen Ruhe- und Aktivitätsphase bei Ratten erhalten blieb. Wir untersuchten deshalb zunächst, in welcher Weise sich die spontane lokomotorische Aktivität von Tieren beider Gruppen verändert, wenn die Biosynthese von NA durch AMPT gehemmt wird. Mit der von uns entwickelten Darreichungsform von LiCl an Ratten war möglich, den Einfluß von chronischer ebenso wie von akuter Lithiumgabe auf das Wirkungsspektrum von AMPT zu untersuchen.

Das Auftreten einer Sedation nach Gabe von AMPT wurde bei Tieren unterschiedlicher Species beobachtet. (Katzen, Meerschweinchen, Ratten) (78, 70) Wir untersuchten nach Gabe von AMPT den Verlauf der Sedation bei Lithiumtieren und Kontrolltieren, um festzustellen, ob chronische Lithiumgabe die nach AMPT auftretende Sedation antagonistisch beeinflußt. Der Einfluß, den Hemmung der Biosynthese von NA auf die circadiane Rhythmik der motorischen Aktivität von Kontrolltieren hat, konnte in unseren Experimenten zum ersten Mal mit "Animex" Geräten objektiv aufgezeichnet werden.

D III 1 a. Motorische Aktivität nach chronischer Li-Behandlung

Zu Beginn der Aktivitätsphase wurden Lithiumtiere und Kontrolltiere um 19 Uhr mit H 44/68 200 mg/kg i. p. behandelt. In den auf AMPT folgenden 38 Stunden wurde mit "Animex" Geräten die motorische Aktivität von Tieren beider Gruppen aufgezeichnet. Der Verlauf der Sedation ist in Abb. 5 wiedergegeben. Im Vergleich von Abbildung 4 mit

Abbildung 5 wird deutlich, daß bereits in der ersten Aktivitätsphase nach Gabe von AMPT von Tieren beider Gruppen beträchtlich weniger Aktivitätsimpulse registriert wurden als von unbehandelten Tieren.



Abb. 5 TAG-NACHT RHYTHMUS NACH HEMMUNG DER BIOSYNTHE-SE VON NA

Motorische Aktivität von Lithiumtieren (-----) und Kontrolltieren (——) nach H 44/68 200 mg/kg i.p. 19 Uhr. Mittelwerte von je 5 Versuchen. Ordinate: Impulse $\times 10^3$ /Stunde mit "Animex" registriert.

Außerdem ist aus Abb. 5 ersichtlich, daß die auf AMPT Behandlung folgende Sedation der Kontrolltiere stärker ausgeprägt war als die der Lithiumtiere. Hiermit wurde zum ersten Mal gezeigt, daß chronische Lithiumbehandlung dazu führt, daß ein NA Defizit von Ratten kompensiert werden kann. Die motorische Aktivität der Lithiumtiere verlief in der ersten auf Behandlung mit AMPT folgenden Aktivitätsphase mit 3 Gipfeln, während Kontrolltiere im gesamten Verlauf der Aktivitätsphase nach Gabe von AMPT stärker sediert wurden. Die Aktivität von Lithiumtieren nahm nur in den ersten beiden Stunden nach Be-

handlung mit AMPT ähnlich ab wie die von Kontrolltieren. Im weiteren Verlauf der Aktivitätsphase waren Lithiumtiere beträchtlich aktiver als Kontrolltiere. Mit Beginn der Ruhephase nahm die motorische Aktivität der Lithiumtiere ab. Am folgenden Tage, in der Ruhephase der Tiere, war in der Aktivität von Lithiumtieren und Kontrolltieren kein Unterschied festzustellen. Mit Beginn der zweiten auf AMPT Behandlung folgenden Aktivitätsphase stieg die motorische Aktivität der Lithiumtiere wieder an, während Kontrolltiere weiterhin sediert blieben. Von Kontrolltieren wurden im Mittel 7 Stunden nach Behandlung mit AMPT gleichbleibend weniger als 1000 Aktivitätsimpulse/Stunde registriert, in der Ruhephase ebenso wie in der Aktivitätsphase. Der den circadianen Rhythmus charakterisierende Wechsel zwischen Ruhe- und Aktivitätsphase blieb in unseren Experimenten nur bei Lithiumtieren nach Hemmung der Biosynthese von NA erhalten, bei Kontrolltieren dagegen nicht.

D III 1 b. Motorische Aktivität nach akuter Lithiumbehandlung

Klinischen Berichten zufolge muß bei der Behandlung mit Lithiumsalzen der akut einsetzende antimanische Effekt von der prophylaktischen antidepressiven Wirksamkeit unterschieden werden. Der prophylaktische Effekt setzt erst nach länger dauernder Medikation bei Menschen ein. (7) Deshalb untersuchten wir, ob der beschriebene Einfluß chronischer Lithiumgaben bereits auftrat, wenn Ratten nur für kurze Zeit mit LiCl behandelt waren.

Ratten, die 4 Tage mit dem Futter mit LiCl Zusatz versorgt wurden, erhielten am 4. Tag ebenso wie Kontrolltiere um 19 Uhr H 44/68 200 mg/kg i. p. . Die motorische Aktivität von Tieren beider Gruppen wurde in der auf H 44/68 Behandlung folgenden Nacht aufgezeichnet. (Abb. 6) Es wird deutlich, daß die motorische Aktivität von Tieren, die mit LiCl kurzfristig vorbehandelt waren, ebenso wie die von Kontrolltieren abnahm.

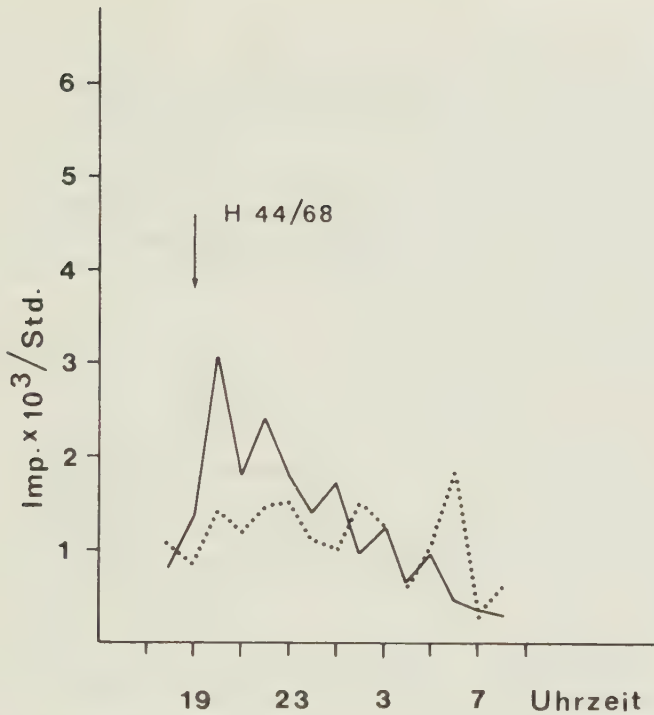


Abb. 6 AKTIVITÄT NACH KURZFRISTIGER GABE VON LiCl H 44/68

Motorische Aktivität nach H 44/68 200 mg/kg i.p. 19 Uhr

Vorbehandlung mit LiCl 4 Tage (-----)

Kontrolltiere (—)

Mittelwerte von je 3 Versuchen

Ordinate: Impulse x 10³ mit Animex registriert

In den ersten Stunden nach AMPT Behandlung war die Sedation der Lithiumtiere sogar stärker ausgeprägt als die von Kontrolltieren. Möglicherweise kann dieser Effekt von kurzfristiger Lithiumgabe in Zusammenhang mit der antimanischen Wirksamkeit von akuter Lithiumbehandlung gesehen werden. Für eine differenzierte Analyse dieses Effektes wären allerdings detaillierte Untersuchungen notwendig. Die Ergebnisse unserer Untersuchungen zeigten jedoch eindeutig, daß Vor-

behandlung mit LiCl über 4 Tage nicht ausreichte, damit bei Ratten ein Schutz vor der Wirkung von AMPT erreicht werden konnte.

Nachdem Lithiumtiere trotz Hemmung der Biosynthese von NA in der Aktivitätsphase in unseren Experimenten aktiver waren als Kontrolltiere, war von Interesse festzustellen, ob sich dieser Unterschied auch biochemisch feststellen ließ. Wir bestimmten deshalb die Konzentration an endogenem NA in den Hirnen von Tieren beider Gruppen.

D III 1 c. Endogenes NA

Lithiumtiere und Kontrolltiere wurden wie in den vorher beschriebenen Experimenten mit AMPT behandelt. (H 44/68 200 mg/kg i. p. 19 Uhr) 8 Stunden später wurden die Tiere durch Dekapitation getötet und in den Hirnen dieser Tiere bestimmten wir die Konzentration an endogenem NA. Der NA Gehalt in Hirnen von Lithiumtieren und Kontrolltieren vor Behandlung mit AMPT wurde ebenfalls bestimmt.

Tabelle 2

NA Konzentration im Hirn nach Hemmung der Biosynthese

	Noradrenalin $\mu\text{g/g}$ Hirn	
	ohne H 44/68	mit H 44/68
Kontrolltiere	$0,48 \pm 0,03$ (7)	$0,19 \pm 0,02$ (5)
Lithiumtiere	$0,49 \pm 0,04$ (10)	$0,27 \pm 0,05$ (5)

$p = 0,01$

NA Konzentration $\mu\text{g/g}$ im Gesamthirn um 3 Uhr nach H 44/68 200 mg/kg i. p. 19 Uhr. Mittelwerte und Standardabweichungen von 5 - 10 Bestimmungen. Anzahl der Tiere in Klammern.

Nach akuter Gabe von LiCl wurde schon vor Beginn dieser Arbeit kein Einfluß auf die endogene NA Konzentration in den Hirnen von Ratten gefunden. (19, 57) Auch nach chronischer Lithiumbehandlung unterschied sich die NA Konzentration in den Hirnen von Lithiumtieren nicht von dem NA Gehalt in den Hirnen von Kontrolltieren vor Behandlung

mit H 44/68. Dagegen wurde in Hirnen von Lithiumtieren, die 8 Stunden nach Gabe von H 44/68 getötet wurden, mehr NA bestimmt als in den Hirnen von Kontrolltieren unter den gleichen Bedingungen.

Mit $0,27 \mu\text{g/g}$ NA wurden in Hirnen von Lithiumtieren 57,4 % der ursprünglichen NA Konzentration bestimmt, während in Hirnen von Kontrolltieren mit $0,19 \mu\text{g/g}$ nur 39,8 % nachzuweisen waren. Dieser Unterschied ist auf dem 1 % Niveau signifikant.

Wir überprüften die Sedation nach AMPT von insgesamt 16 Kontrolltieren und verglichen sie mit der Sedation von Lithiumtieren und von Tieren, die nur 4 Tage mit LiCl behandelt waren.

D III 1 d. Analyse der Sedation nach AMPT Behandlung

Wir berechneten die prozentualen Anteile der motorischen Aktivität nach Behandlung mit AMPT und dabei sahen wir, daß der zeitliche Verlauf der Sedation nach AMPT Behandlung bei den Kontrolltieren beider Versuchsreihen weitgehend übereinstimmte. (Abb. 7) Die Voraussetzung für unsere Überlegung, ähnliche Abnahme der motorischen Aktivität als Indikator für die Abnahme der endogenen NA-Konzentration nach Hemmung der Biosynthese, sahen wir an insgesamt 16 Kontrolltieren bestätigt. Bei der Berechnung wurden die Werte der motorischen Aktivität ohne den Einfluß von Pharmaka von Lithiumtieren und Kontrolltieren mit 100 % angenommen.

Aus Abb. 7 geht hervor, daß nach Behandlung mit H 44/68 die motorische Aktivität von Kontrolltieren beider Versuchsreihen bis 24 Uhr nur 30 - 40 % der Aktivität von unbehandelten Kontrolltieren betrug.

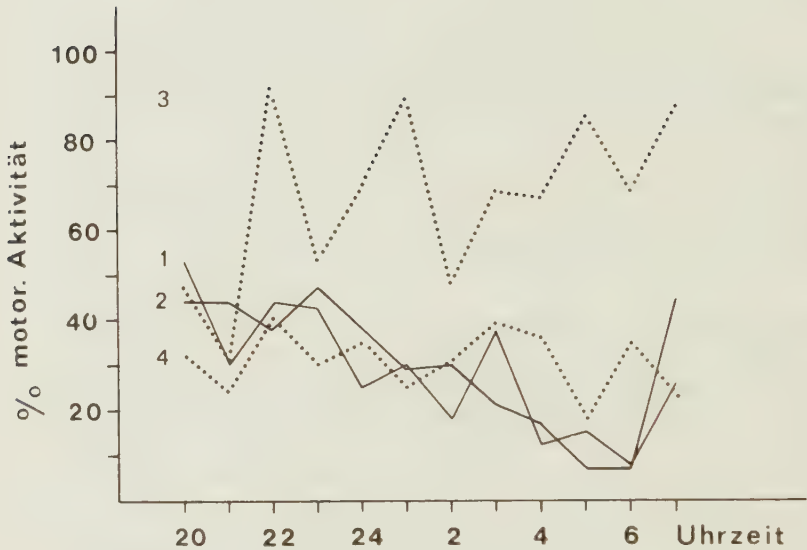


Abb. 7 ANALYSE DER SEDATION NACH HEMMUNG DER BIOSYN-
THESE VON NA

Prozentualer Anteil der motorischen Aktivität nach H 44/68 200 mg/kg
i.p. 19 Uhr

Ordinate: Prozent der Aktivität von 4 x 2 Kontrolltieren und 4 x 2
Lithiumtieren

1: Kontrolltiere in Vorbehandlung mit LiCl 28 Tage und länger (Mit-
telwerte von 5 Versuchen)

2: Kontrolltiere in Vorbehandlung mit LiCl 4 Tage (Mittelwerte von
3 Versuchen)

3: Lithiumtiere (Mittelwerte von 5 Versuchen)

4: Vorbehandlung mit LiCl 4 Tage (Mittelwerte von 3 Versuchen)

Ebenso stark war die motorische Aktivität der Tiere reduziert, die für 4 Tage mit Lithium vorbehandelt waren. Im weiteren Verlauf der Nacht wurden von Kontrolltieren beider Versuchsreihen nur 20 - 30 % der normalen Aktivität registriert. Gegen Ende der Aktivitätsphase war die Aktivität von unbehandelten Kontrolltieren hoch. (Abb. 3) Die Werte nach Behandlung mit AMPT berechneten sich mit etwa 10 % dieser Aktivität. Die motorische Aktivität von Tieren, die nur 4 Tage mit Lithium behandelt waren, betrug in der gesamten Aktivitätsphase nach AMPT Behandlung etwa 40 % der Aktivität von Lithiumtieren. Ihre Aktivität unterschied sich nicht von der von Kontrolltieren.

Allein für Tiere, die mindestens 28 Tage mit LiCl vorbehandelt waren, berechnete sich der prozentuale Anteil der motorischen Aktivität nach AMPT Behandlung höher. Ihre Aktivität betrug 3 Stunden nach Gabe von AMPT 91 % der normalen Aktivität von Lithiumtieren. Sie schwankte bis 1 Uhr, 6 Stunden nach Gabe von AMPT, zwischen 70 und 90 % und berechnete sich um 2 Uhr mit 50 % der normalen Aktivität. Die Bestimmung der NA Konzentration hatte gezeigt, daß in Hirnen von Lithiumtieren, die um 19 Uhr mit AMPT behandelt und 8 Stunden später getötet wurden, signifikant mehr NA bestimmt wurde als in Hirnen von Kontrolltieren. Die motorische Aktivität der Lithiumtiere berechnete sich bis zu Beginn der Ruhephase um 7 Uhr, also 12 Stunden nach Gabe von AMPT, mit 70 - 80 % der Aktivität von unbehandelten Lithiumtieren.

D III 1 e. Zusammenfassung und Diskussion

In den beschriebenen Experimenten wurde zum ersten Male gezeigt, daß unter dem Einfluß von chronischer Lithiumbehandlung bei Ratten der circadiane Rhythmus der motorischen Aktivität wie auch der endogene NA Gehalt von Hemmung der NA Biosynthese nicht im gleichen Maße beeinflußt wird wie bei Kontrolltieren. Dieser Effekt trat nur nach chronischer Gabe von Lithium auf, nicht dagegen nach 4 Tagen.

Bei den Futterversuchen hatten wir festgestellt, daß bei oraler Verabreichung von LiCl mit dem Futter an Ratten bereits nach 2 Tagen

Li^+ im Serum der Tiere in einer Konzentration vorlag, die auch nach länger dauernder Aufnahme von LiCl bestimmt wurde. (Abb. 2) Der unterschiedliche Einfluß, den chronische oder kurz dauernde Vorbehandlung mit LiCl auf die Wirkung von AMPT hat, kann also nicht auf unterschiedliche Li^+ Konzentration im Serum der Tiere zurückgeführt werden.

Denkbar ist allerdings, daß bei länger dauernder Verabreichung von LiCl sich die Verteilung von Li^+ zwischen Gewebe und Serum ändert. Bei Menschen tritt nach 7 - 8 Tagen, in denen täglich Li^+ aufgenommen wird, Gewebssättigung ein. Nach einmaliger Gabe von LiCl bei Ratten ist nach 8 Stunden ein Gleichgewicht in der Verteilung von Li^+ zwischen Plasma und Gewebszellen eingetreten. (66) Die "Natrium-Pumpe" unterscheidet zwischen Li^+ und Na^+ in der Weise, daß Li^+ intrazellulär angereichert wird. (27) Für die Freisetzung und die Wiederaufnahme von NA in die Nervenzelle ist eine physiologische intrazelluläre Na^+ Konzentration Voraussetzung. (12, 17)

Der beschriebene unterschiedliche Einfluß von chronischer und kurz dauernder Gabe von LiCl auf die Abnahme von NA nach Hemmung der Biosynthese könnte seine Ursache darin haben, daß bei länger dauernder Vorbehandlung mit LiCl ein größerer Anteil an Li^+ intrazellulär lokalisiert ist als bei kurz dauernder Gabe von LiCl . Allerdings wurde erst kürzlich gezeigt, daß Gabe von LiCl nicht zu einer Veränderung der Konzentration an Na^+ und K^+ in Gewebe und Serum führt. (50) Diese Untersuchungen wurden an Ratten vorgenommen, denen LiCl als i. p. Injektion 9 Tage lang verabreicht wurde. Die Konzentration an Li^+ im Serum der auf diese Weise behandelten Tiere wird leider nicht angegeben, so daß diese Ergebnisse nicht vorbehaltlos auf die Ergebnisse unserer Untersuchungen übertragen werden können.

Zu Beginn dieser Arbeit und auch in der Zwischenzeit wurde der Einfluß von akuter LiCl Gabe auf die NA Konzentration nach Hemmung der Biosynthese untersucht. (19, 73) In den Hirnen von Tieren, die einmal mit LiCl behandelt waren, nahm die NA Konzentration schneller ab als in Hirnen von unbehandelten Tieren. Aus diesen und ähnlichen Befunden, in denen der Metabolismus von 7^3H-NA nach akuter LiCl Gabe untersucht wurde, schlossen verschiedene Autoren, daß

die Umsatzrate von NA durch Li^+ Einfluß erhöht werde. (57, 73)

Allerdings wurde 1969 zum ersten Mal diskutiert, daß die Steigerung der Umsatzrate von NA der Belastung zuzuschreiben ist, der die Tiere durch einmalige Gabe von LiCl in hoher Dosierung ausgesetzt sind. (21) Wenn Ratten LiCl mit dem Futter erhielten, wurde nach Hemmung der Biosynthese kein Einfluß von chronischer Lithiumbehandlung auf die Konzentration von NA gefunden. (21) Allerdings bestimmten diese Autoren sowohl histochemisch wie biochemisch in den Hirnen der mit LiCl vorbehandelten Tiere mehr Dopamin, die Vorstufe von NA. Die Tageszeit, zu der die Untersuchungen vorgenommen wurden, geben die Autoren nicht an. Es ist anzunehmen, daß sie tagsüber, in der Ruhephase von Ratten, gearbeitet haben. Möglicherweise kann die Erklärung dafür, daß in unseren Experimenten der NA Anteil in den Hirnen von Lithiumtieren höher als bei Kontrolltieren bestimmt wurde, in der unterschiedlichen Aktivitätsstufe der Tiere gesehen werden. In der Ruhephase, 12 Stunden nach AMPT, war in unseren Experimenten die motorische Aktivität von Lithiumtieren ähnlich wie die von Kontrolltieren, nur in der ersten und zweiten Aktivitätsphase unterschied sich die motorische Aktivität beider Gruppen. Bis heute sind 2 Veröffentlichungen erschienen, in denen die NA Biosynthese unter chronischer Gabe von LiCl an Ratten untersucht wurde, wenn LiCl dem Futter von Ratten zugesetzt wurde. In beiden Untersuchungen, die vermutlich am Tage durchgeführt wurden, hat chronische Lithiumbehandlung keinen Einfluß auf die NA Menge, die entweder nach Hemmung der Biosynthese (21) oder nach Infusion der radioaktiv markierten Vorstufe von NA bestimmt wird. (61) In der Aktivitätsphase von Ratten wurde der NA Stoffwechsel unter Lithiumeinfluß bis heute nur in der vorliegenden Arbeit untersucht.

Die bei Lithiumtieren höhere motorische Aktivität als bei Kontrolltieren ließ eine höhere Umsatzrate von NA in den Hirnen dieser Tiere erwarten. Nach Gabe von AMPT sollte deshalb die NA Konzentration in den Hirnen dieser Tiere niedriger sein als in Hirnen von Kontrolltieren. Denn nach Hemmung der Biosynthese nimmt die NA Konzentration in dem Maße ab, wie NA bei ankommenden Nervenimpulsen freigesetzt und in der Folge metabolisiert wird.

In unseren Untersuchungen fanden wir dagegen in den Hirnen von Lithiumtieren signifikant mehr NA als in Hirnen von Kontrolltieren. Zur Erklärung dieses bisher nicht beschriebenen Effektes kann vor allem eine bereits bekannte Wirkung von Li^+ herangezogen werden. Die Aufnahme von NA in Synaptosomen ist verbessert, wenn Li^+ dem Inkubationsmedium zugesetzt wird. (18) Wenn NA nach erhöhter Aufnahme in die Nervenzelle auch besser vor dem Angriff des intrazellulären Enzyms MAO durch eine veränderte Speicherfähigkeit geschützt ist, kann unter Lithiumeinfluß ein NA Mangel kompensiert werden. Nach den Ergebnissen unserer Untersuchungen - höhere motorische Aktivität der Lithiumtiere mit höherem NA Gehalt bei gehemmter Biosynthese von NA - wird deutlich, daß der intrazellulären Dynamik der NA Speicherung und Freisetzung größere Bedeutung als heute weithin gebräuchlich zugemessen werden muß.

Verschiedene Untersuchungen haben gezeigt, daß sowohl in der Körperperipherie (36) wie auch im ZNS (82) bevorzugt neu synthetisiertes NA freigesetzt wird. Ohne genauere Charakterisierung wird der Funktion nach zwischen einem "labilen" Speicher für NA mit hoher Umsatzrate und einem "stabilen" Speicher unterschieden. Bei gehemmter Biosynthese wird definitionsgemäß zunächst der "labil" gespeicherte Anteil an NA verbraucht. Der Anteil an NA, der "stabil" gespeichert wird, ist größer zu denken als das "labil" gespeicherte NA. Die Hypothese von funktionell unterschiedlichen Speichern für NA wurde aufgegriffen, als eine Abhängigkeit von der Tageszeit in der Akkumulation von ^3H -CA in Hirnen von Ratten nachgewiesen wurde. (82) Nach Injektion der radioaktiv markierten Vorstufe von CA, ^3H -TYR, war die Anreicherung von markiertem CA in der Ruhephase von Ratten doppelt so hoch wie in der Aktivitätsphase. Die Größe des "labilen" und "stabilen" Speichers unterliegt einer circadianen Rhythmik, in der Ruhephase wird der "stabile" Speicher größer angenommen als in der Aktivitätsphase. (82)

Nach den Ergebnissen unserer Untersuchungen scheint bei Ratten durch chronische Lithiumbehandlung eine Veränderung in der Austauschbarkeit des "labil" und "stabil" gespeicherten Anteils an NA stattzufinden. Der Anteil an NA, der "stabil" gespeichert wird, scheint bei

Lithiumtieren in größerem Maße bei der Reizübertragung mobilisiert zu werden als bei Kontrolltieren.

Für den unterschiedlichen Einfluß von chronischer und kurz dauernder Lithiumbehandlung auf die Wirkung von AMPT könnte die Auswirkung chronischer Lithiumgabe auf die Nierentätigkeit verantwortlich sein. Li^+ wird über die Nieren ausgeschieden. (76) Nach Gabe von H 44/68 ebenso wie nach AMPT kommt es zu kristallinen Ablagerungen von AMPT in den Nierentuben, wenn Ratten mit dem 3fachen der von uns verwendeten Dosis von H 44/68 behandelt wurden. (41)

D III 2. Einfluß auf den stabilen Speicher

Wie oben gezeigt, wurde der circadiane Rhythmus der motorischen Aktivität bei chronisch mit Lithium vorbehandelten Tieren durch AMPT im Unterschied zu Kontrolltieren nicht wesentlich verändert. Deshalb sollte untersucht werden, ob und in welcher Weise auch die Auswirkungen von Reserpin durch chronische Lithiumgaben beeinflusst werden. Reserpin führt über einen anderen Angriffspunkt als AMPT dazu, daß die Konzentration an endogenem NA abnimmt. Auch andere biogene Amine als NA werden durch Reserpin beeinflusst, der Mechanismus der Reserpinwirkung wird in einer Störung der neuronalen Speicherkapazität für biogene Amine gesehen. (30) In der experimentellen Psychopharmakologie spielt die als Folge der Reserpinwirkung einsetzende Verarmung des ZNS an biogenen Aminen eine wichtige Rolle. Bei Versuchstieren setzt nach Reserpin eine Sedation ein, die als Tiermodell einer menschlichen Depression angesehen wird. (56)

Die Anwendung von Reserpin bei Hypertonie ist bei 10 - 20 % der Patienten mit dem Auftreten einer Depression verbunden, die klinisch nicht von einer endogenen Depression unterschieden werden kann (23) Deshalb prüften wir, ob die Sedation nach Reserpin bei Lithiumtieren anders verläuft als bei Kontrolltieren. Außerdem bestimmten wir die endogene NA Konzentration in den Hirnen von Tieren beider Gruppen zu verschiedenen Zeitpunkten nach Reserpingabe. Weiterhin analysierten wir den NA Metabolismus nach Reserpin in den Hirnen von Tieren beider Gruppen. Mit unseren Methoden konnte außerdem unter-

sucht werden, in welcher Weise die Reserpinwirkung von der circadianen Rhythmik der motorischen Aktivität beeinflußt wird.

D III 2 a. Verhalten

Wir prüften zunächst, ob die Sedation nach Reserpin bei den Lithiumtieren in Beginn, Verlauf oder Dauer gegenüber der Sedation von Kontrolltieren verändert ist. Kontrolltiere und Lithiumtiere wurden mit Reserpin in unterschiedlicher Dosierung und in verschiedenen Aktivitätsstadien behandelt und die motorische Aktivität der Tiere wurde im Anschluß mit "Animex" Geräten registriert.

D III 2 a - 1. Reserpin 21 Uhr

Zur Zeit der ersten hohen motorischen Aktivität von unbehandelten Tieren beider Gruppen um 21 Uhr (Abb. 3) wurde Reserpin in zwei Dosierungen (2 mg/kg und 3 mg/kg) injiziert. Die Reserpindosis sollte einerseits ausreichen, daß der Beginn der Sedation eindeutig vom "Animex" Gerät registriert werden konnte. Andererseits durfte sie aber nicht so hoch sein, daß eine möglicherweise durch chronische Lithiumbehandlung eingetretene Schutzwirkung von einer zu massiven Reserpinwirkung überlagert würde.

Kontrolltiere wurden in diesen Experimenten dosisabhängig 3 bzw. 6 Stunden nach Reserpin motorisch aktiv, Lithiumtiere dagegen nicht. (Abb. 8A, 8B) Erst in der zweiten Aktivitätsphase nach Gabe von Reserpin waren die Kontrolltiere ebenso wie die Lithiumtiere eindeutig stark sediert. Die Sedation der Lithiumtiere nach Reserpin dauerte ebenso lange wie die von Kontrolltieren. In den auf Reserpinbehandlung folgenden Nächten nahm die Anzahl der mit "Animex" registrierten Aktivitätsimpulse ständig zu, allerdings war die Aktivität von unbehandelten Tieren beider Gruppen auch nach 5 Nächten noch nicht erreicht. Nach der höheren Reserpindosis (3 mg/kg) nahm die motorische Aktivität der Kontrolltiere früher und stärker zu als nach der schwächeren Dosierung (2 mg/kg). Wahrscheinlich ist dieser Effekt auf die stärkere Freisetzung von biogenen Aminen zurückzuführen, die durch die höhere Reserpindosis hervorgerufen wird.

Nach 3 mg/kg Reserpin hielt die motorische Aktivität der Kontrolltiere in einzelnen Versuchen in dem gesamten Verlauf der auf Reserpinbehandlung folgenden Ruhephase an.

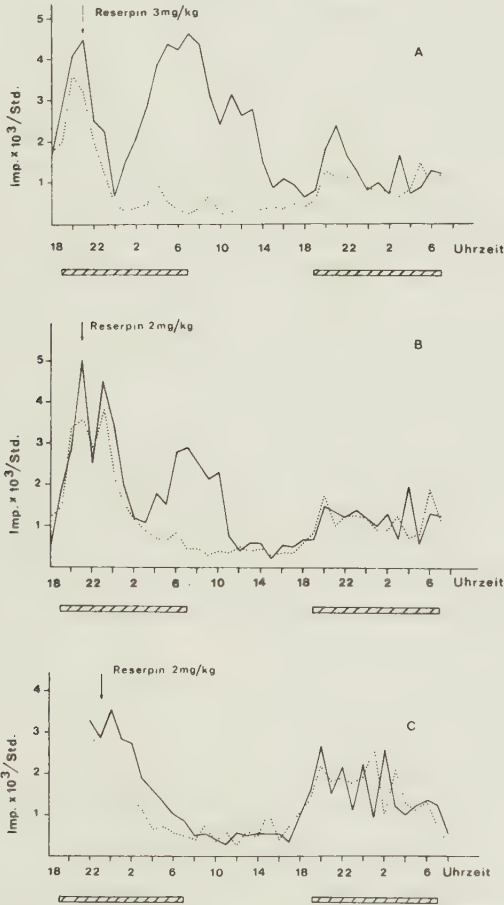


Abb. 8 MOTORIK NACH RESERPIN IN DER AKTIVITÄTSPHASE
 Lithiumtiere (-----) Kontrolltiere (——) Dunkelheit (▨▨▨▨)
 A: Reserpin 3 mg/kg s.c. 21 Uhr (Mittelwerte von 5 Versuchen)
 B: Reserpin 2 mg/kg s.c. 21 Uhr (Mittelwerte von 4 Versuchen)
 C: Reserpin 3 mg/kg s.c. 23 Uhr (Mittelwerte von 5 Versuchen)

In der Summenkurve von 5 Versuchen läßt sich die höhere motorische Aktivität der Kontrolltiere bis 14 Uhr des nächsten Tages ablesen. (Abb. 8A) Erst 17 Stunden nach Gabe von Reserpin um 21 Uhr waren Kontrolltiere ebenso wie Lithiumtiere eindeutig stark sediert.

Da die Aufzeichnung der motorischen Aktivität mit "Animex" keine Aussagen über die Eigenschaften der Aktivität zuläßt, wurden Tiere beider Gruppen nach Gabe von Reserpin (3 mg/kg) um 21 Uhr zwischen 2.³⁰ und 3 Uhr beobachtet. Zu dieser Zeit registrierten die "Animex" Geräte bereits beträchtlich mehr Aktivitätsimpulse von Kontrolltieren als von Lithiumtieren. In den Gruppen, die beobachtet wurden, unterschieden sich Kontrolltiere von Lithiumtieren dadurch, daß bei ihnen 5 - 10 Minuten dauernde Phasen einer sterotypen unkoordinierten Hyperaktivität mit völliger lokomotorischer Ruhe abwechselten. Lithiumtiere dagegen verharrten in der nach Reserpingabe typischen zusammengekauerten Haltung, die als "Bison"-Haltung beschrieben wird. (53) In den für die Wirkung von Reserpin typischen Symptomen wie Rigor, Tremor, Diarrhoe unterschieden sich Kontrolltiere nicht von Lithiumtieren. Nach den Kriterien eines Testes (1) konnten die Kontrolltiere im Abstand von 10 Minuten einmal als hyperaktiv und dann als kataleptisch klassifiziert werden. Lithiumtiere waren in der ganzen Beobachtungszeit kataleptisch.

Tabelle 3
Aktivität nach Reserpin

Aktivitätsstufe um	Lithiumtiere (5)	Kontrolltiere (5)
2 ⁵⁰ Uhr	kataleptisch	hyperaktiv
3 Uhr	kataleptisch	kataleptisch

Stadien der motorischen Aktivität nach Reserpin 3 mg/kg 21 Uhr von Lithiumtieren und Kontrolltieren. Anzahl der Tiere in Klammern.

In den ersten 3 Stunden nach Gabe von Reserpin zeigte sich in beiden Dosierungen von Reserpin kein Unterschied zwischen Lithiumtieren und Kontrolltieren in der motorischen Aktivität. Chronische Lithiumvorbehandlung hatte in diesen Experimenten keinen Einfluß auf die Wirkung von Reserpin auf die Motorik in den ersten Stunden. Nach 3 mg/kg Reserpin nahm die motorische Aktivität von Tieren beider Gruppen kontinuierlich ab, von der 3. Stunde an wurden Kontrolltiere im Unterschied zu Lithiumtieren zunehmend aktiver. (Abb. 8A)

Nach Gabe von 2 mg/kg Reserpin hatte die motorische Aktivität von Lithiumtieren ebenso wie von Kontrolltieren in der ersten Stunde ähnlich wie nach 3 mg/kg abgenommen, war dann aber noch einmal in Bereiche der normalen Aktivität angestiegen. (Abb. 8B) Erst nach 23 Uhr nahm die motorische Aktivität beider Gruppen ab. Um 3 Uhr wurden von Kontrolltieren etwa 1/3 der Aktivitätsimpulse der normalen Aktivität registriert, obwohl die Aktivität von unbehandelten Kontrolltieren zu diesem Zeitpunkt gering ist. (Abb. 4) Dann nahm jedoch die Motorik der Kontrolltiere wieder zu und erreichte um 7 Uhr, zu Beginn der Ruhephase, etwa das 3fache der Aktivität von unbehandelten Kontrolltieren. Die motorische Aktivität der Kontrolltiere war nach 3 mg/kg Reserpin um 21 Uhr noch höher. Lithiumtiere waren im Unterschied zu Kontrolltieren zu jedem Zeitpunkt nach Reserpinbehandlung stärker sediert als unbehandelte Lithiumtiere.

In weiteren Untersuchungen sollte geklärt werden, ob der Beginn der Sedation nach Reserpin bei Kontrolltieren von der circadianen Rhythmik oder motorischen Aktivität abhängig ist. Da sich Lithiumtiere von Kontrolltieren in dieser Hinsicht unterschieden, könnte ein besseres Verständnis dieses Phänomens zur Aufklärung des Wirkmechanismus der prophylaktischen Lithiumbehandlung beitragen. Deshalb verabreichten wir Reserpin zu einem anderen Zeitpunkt in der Aktivitätsphase und außerdem in der Ruhephase. Lithiumtiere und Kontrolltiere erreichten nach dem ersten Gipfel der motorischen Aktivität um 21 Uhr das erste Minimum in der Aktivitätsphase um 23 Uhr. (Abb. 3)

D III 2 a - 2. Reserpin 23 Uhr

Wir behandelten um 23 Uhr Tiere beider Gruppen mit der schwächeren Dosis von Reserpin (2 mg/kg), die um 21 Uhr bei Kontrolltieren noch eine Hyperaktivität ausgelöst hatte. In diesen Experimenten fehlte bei Kontrolltieren ebenso wie bei Lithiumtieren die nach Gabe von Reserpin um 21 Uhr auftretende Zunahme der motorischen Aktivität. (Abb. 8C) Ebenso wie Lithiumtiere wurden Kontrolltiere im gesamten Verlauf der auf Reserpingabe folgenden Aktivitätsphase zunehmend stärker sediert. Allerdings wurden in diesen Experimenten geringe Schwankungen der motorischen Aktivität von Lithiumtieren bereits 10 Stunden nach Reserpingabe registriert, während nach Gabe von Reserpin um 21 Uhr die stundenweise ausgedruckten Aktivitätsimpulse über einen Zeitraum von 21 Stunden weitgehend konstant blieben. In der zweiten Aktivitätsphase nach Reserpin um 23 Uhr war die motorische Aktivität beider Gruppen nicht so stark reduziert, als wenn den Tieren um 21 Uhr Reserpin gegeben wurde. Wir untersuchten nun die Sedation, wenn Reserpin in der Ruhephase appliziert wurde.

D III 2 a - 3. Reserpin 9 Uhr

Für die weiteren Experimente verwendeten wir die höhere Reserpin-dosis (3 mg/kg). 2 Stunden nach Beginn der Ruhephase wurden Lithiumtiere und Kontrolltiere um 9 Uhr mit Reserpin (3 mg/kg) behandelt. In diesen Versuchen nahm in den 3 auf Reserpingabe folgenden Stunden die motorische Aktivität von Tieren beider Gruppen geringfügig zu, von Lithiumtieren ebenso wie von Kontrolltieren. (Abb. 9A) In der gesamten folgenden Ruhephase war die Sedation der Lithiumtiere stärker ausgeprägt als die von Kontrolltieren. 10 Stunden nach Gabe von Reserpin um 9 Uhr, zu Beginn der nächsten Aktivitätsphase um 19 Uhr, stieg die motorische Aktivität in beiden Gruppen leicht. Die Aktivität der Kontrolltiere hatte 3 Gipfel, während die der Lithiumtiere gleichförmig wie in der Ruhephase verlief. Die Tiefpunkte der normalen Aktivität von Kontrolltieren um 23 Uhr und um 2 Uhr erschienen auch nach Reserpinbehandlung, ebenso die Scheitelpunkte der Aktivität um 21 Uhr und gegen 24 Uhr. (Abb. 9A)

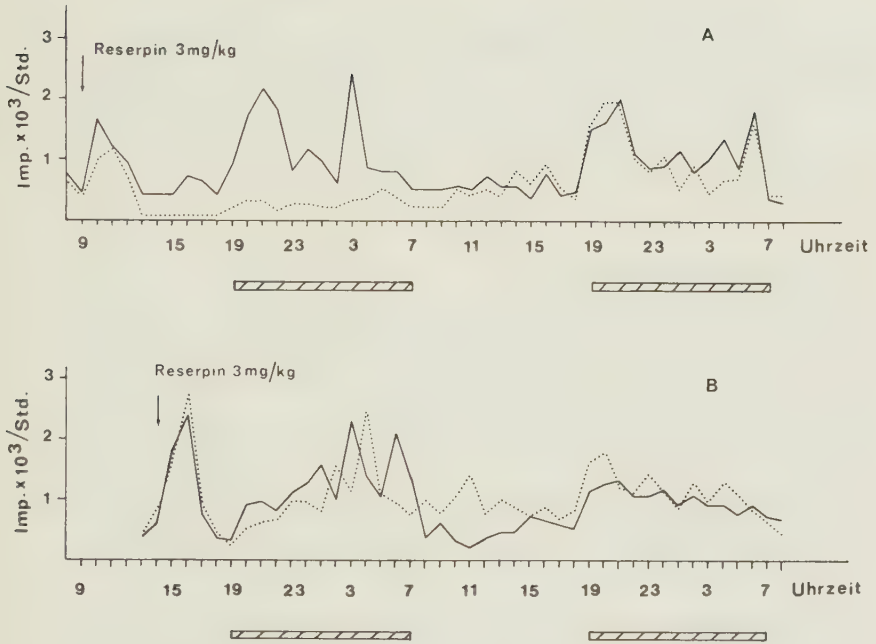


Abb. 9 MOTORIK NACH RESERPIN IN DER RUHEPHASE

Lithiumtiere (- - - - -)

Kontrolltiere (———)

Dunkelheit 

Mittelwerte von Versuchen mit 5 x 2 Lithiumtieren und 5 x 2 Kontrolltieren

A: Reserpin 3 mg/kg 9 Uhr

B: Reserpin 3 mg/kg 14 Uhr

Der letzte Aktivitätsgipfel vor der Ruhephase wurde in 5 Versuchen ebenfalls registriert, wenn auch mit zeitlicher Verschiebung. Lithiumtiere blieben gleichmäßig stark sediert, nennenswerte Schwankungen ihrer motorischen Aktivität wurden nicht registriert. 29 Stunden nach Reserpingabe, um 14 Uhr des nächsten Tages, sah es so aus, als wenn

die Sedation der Lithiumtiere früher als die von Kontrolltieren beendet wäre. Allerdings war in der zweiten Nacht nach Reserpin die Aktivität der Lithiumtiere ähnlich reduziert wie die von Kontrolltieren. In einer weiteren Versuchsreihe sollte deshalb geklärt werden, ob die Lithiumtiere nach Reserpinbehandlung früher als Kontrolltiere aktiv wurden, wenn Reserpin zu einem anderen Zeitpunkt in der Ruhephase gegeben wurde.

D III 2 a - 4. Reserpin 14 Uhr

Auch nach Gabe von Reserpin (3 mg/kg) um 14 Uhr stieg in den nächsten 3 Stunden die motorische Aktivität leicht wie nach Reserpingabe um 9 Uhr. Dann nahm die Aktivität von Tieren beider Gruppen ab und betrug um 19 Uhr, zu Beginn der Aktivitätsphase, etwa 15 % der normalen Aktivität beider Gruppen. Im Unterschied zu Reserpingabe um 9 Uhr nahm die Motorik beider Gruppen in der nun folgenden Aktivitätsphase nur geringfügig zu. In der Summenkurve von 5 Versuchen wird deutlich, daß auch in diesen Experimenten wie nach Gabe von Reserpin um 23 Uhr bereits 10 Stunden später rhythmische Schwankungen der motorischen Aktivität von Lithiumtieren aufgezeichnet wurden. Zu Beginn der auf Reserpinbehandlung folgenden Ruhephase waren Lithiumtiere aktiver als Kontrolltiere. In der zweiten auf Reserpingabe folgenden Aktivitätsphase waren die Lithiumtiere jedoch ähnlich sediert wie die Kontrolltiere.

D III 2 b. Biochemische Daten

Wie oben gezeigt, war der Reserpineffekt nur um 21 Uhr bei Lithiumtieren verschieden von unbehandelten Tieren. (Abb. 8A, 8B) Da die Sedation nach Reserpin eng mit dem Aminstoffwechsel bzw. mit dem NA Stoffwechsel in Beziehung steht, prüften wir, ob sich chronische Lithiumbehandlung neben der motorischen Aktivität nach Reserpin auch biochemisch in einer Veränderung des NA Stoffwechsels auswirkte.

D III 2 b - 1. Endogenes NA

Vor Reserpinbehandlung war die NA Konzentration in den Hirnen von Tieren beider Gruppen gleich. (Tab. 4) 2 und 6 Stunden nach Reserpin (3 mg/kg s.c. 21 Uhr) wurden Tiere beider Gruppen dekapitiert und wir bestimmten in den Hirnen dieser Tiere den NA Gehalt.

Tabelle 4

Endogenes NA nach Reserpin

Lithiumtiere	Kontrolltiere	Behandlung
0,52 (3) ± 0,03	0,54 (3) n. s. ± 0,03	unbehandelt
0,32 (5) ± 0,03	0,28 (5) x) ± 0,02	2 Stunden nach Reserpin
0,16 (5) ± 0,02	0,14 (5) n. s. ± 0,02	6 Stunden nach Reserpin

Endogene NA Konzentration $\mu\text{g/g}$ in Hirnen von Lithiumtieren und Kontrolltieren 2 Stunden und 6 Stunden nach Gabe von Reserpin 3 mg/kg s.c. 21 Uhr. Anzahl der Tiere in Klammern.

x) $p = 0,05$ n. s. = nicht signifikant

2 Stunden nach Reserpingabe enthielten Hirne von Lithiumtieren signifikant mehr NA als Hirne von Kontrolltieren. Bei Lithiumtieren wurden noch 62 % (0,32 $\mu\text{g/g}$) der ursprünglichen NA Konzentration bestimmt, in Hirnen von Kontrolltieren dagegen nur 0,28 $\mu\text{g/g}$, das sind 51 % des ursprünglichen NA Gehaltes. 6 Stunden nach Reserpingabe hatte der NA Gehalt in den Hirnen beider Gruppen, wie zu erwarten war, weiterhin abgenommen. Kontrolltiere hatten noch 26 % der ursprünglichen NA Konzentration, in Hirnen von Lithiumtieren wurden noch 30 % bestimmt. Dieser Unterschied ist jedoch nicht mehr signifikant.

Die Bestimmung der endogenen NA Konzentration läßt keine Aussagen über den NA Stoffwechsel zu. Der in Hirnen von Lithiumtieren höhere NA Gehalt nach Reserpin ließ jedoch vermuten, daß NA in Hirnen von Lithiumtieren anders als in Hirnen von Kontrolltieren nach Reserpin metabolisiert wurde. Wir untersuchten deshalb den NA Metabolismus mit markiertem NA nach Reserpinvorbehandlung um 21 Uhr (3 mg/kg s.c.), um damit einen differenzierteren Einblick in die Stoffwechsel-lage unter Lithiumbehandlung zu erhalten.

D III 2 b - 2. Reserpin 3 mg/kg 21 Uhr vor 7^3H -NA 0 Uhr

Die Verhaltensversuche hatten gezeigt, daß Kontrolltiere nach Reserpin um 21 Uhr 3 Stunden später im Gegensatz zu Lithiumtieren motorisch aktiv wurden. (Abb. 8A) Deshalb erhielten mit Reserpin um 21 Uhr vorbehandelte Lithiumtiere und Kontrolltiere um 0 Uhr intracisternale Injektion von 7^3H -NA. 2 Stunden später wurden diese Tiere getötet und in den Stammhirnen wurden die radioaktiv markierten Verbindungen analysiert. (Tab. 5) Auf diese Weise konnte der NA Metabolismus in Hirnen von Lithiumtieren und Kontrolltieren untersucht werden, der zwischen der dritten und der fünften Stunde nach Reserpingabe ablief. Zu dieser Zeit fing die höhere motorische Aktivität der Kontrolltiere gerade an. (Abb. 8A) Aus Tab. 5 geht hervor, daß nach Reserpin der prozentuale Anteil an unverändertem NA stark verringert war. Dafür hatte die Radioaktivität in den Fraktionen sämtlicher Metaboliten von NA prozentual stark zugenommen, am meisten waren die MH Verbindungen angestiegen. Dieser Reserpineffekt, Zunahme der NA Metaboliten und gleichzeitige NA Abnahme, war zur Zeit unserer Untersuchungen bereits bekannt.

Tabelle 5

Stoffwechsel von 7^3H-NA 0 Uhr im Stammhirn

ohne Reserpin	mit Reserpin		
Kontrolltiere (6)	Kontrolltiere (8)	Lithiumtiere (8)	Differenz Li-K
NA $56,70 \pm 3,77$	$17,80 \pm 2,10$	$22,48 \pm 3,98$	$+ 4,68 *$
NM $6,35 \pm 1,09$	$10,31 \pm 2,07$	$11,54 \pm 2,61$	$+ 1,23$
DH $13,37 \pm 1,55$	$24,85 \pm 2,21$	$24,00 \pm 2,25$	$- 0,85$
MH $23,47 \pm 2,92$	$46,86 \pm 2,33$	$41,78 \pm 4,20$	$- 5,08 *$
cpm/g 243907	166205	164040	

7^3H-NA Metabolismus in Stammhirnen von Lithiumtieren und Kontrolltieren zwischen 0 Uhr und 2 Uhr nach Vorbehandlung mit Reserpin (3 mg/kg s.c. 21 Uhr) 7^3H-NA wurde intracisternal injiziert, 2 Stunden nach 7^3H-NA wurden die Tiere dekapitiert. Dünnschicht-chromatographische Trennung von 7^3H-NA und den Hauptmetaboliten. Prozentualer Anteil der Gesamtaktivität. Anzahl der Tiere in Klammern. cpm/g = Gesamtaktivität im Hirn
x) = 0,05

Tabelle 5 zeigt, daß in Hirnen von Lithiumtieren der Reserpineffekt nicht so stark ausgeprägt war wie in Hirnen von Kontrolltieren. Der Anteil an unverändertem NA wurde bei Lithiumtieren mit 22,5 % bestimmt und war damit signifikant höher als in Hirnen von Kontrolltieren. (17,8 %)

In Hirnen von Lithiumtieren wurden dafür etwa 5 % weniger MH-Verbindungen nachgewiesen als in Hirnen von Kontrolltieren. Lithiumvorbehandlung führte dazu, daß der NA Metabolismus nach Reserpin

nicht so stark verändert wurde wie bei Kontrolltieren. NA wurde in Hirnen von Lithiumtieren nach Reserpin nicht im gleichen Ausmaß von MAO und COMT wie in Hirnen von Kontrolltieren metabolisiert. Auch der Gehalt an endogenem NA war 2 Stunden nach Reserpin signifikant höher als in Hirnen von Kontrolltieren, 6 Stunden nach Reserpin war dieser Unterschied allerdings nicht mehr signifikant. (Tab. 4) Der Metabolismus von NA sollte deshalb zu einem späteren Zeitpunkt nach Reserpinvorbehandlung untersucht werden. Von Interesse war, den NA Stoffwechsel in der Zeit der hohen motorischen Aktivität der Kontrolltiere zu analysieren.

D III 2 b - 3. Reserpin 3 mg/kg 21 Uhr vor 7^3H -NA 8 Uhr

Kontrolltiere und Lithiumtiere erhielten nach Vorbehandlung mit Reserpin (3 mg/kg 21 Uhr) 11 Stunden später intracisternale Gabe von 7^3H -NA. 13 Stunden nach Reserpinvorbehandlung wurden diese Tiere getötet und NA und die Hauptmetaboliten wurden isoliert. (Tab. 6) Es zeigte sich, daß in Hirnen von Lithiumtieren zwischen der 11. und 13. Stunde nach Reserpin ebenso viel NA enthalten war wie in Hirnen von Kontrolltieren. Allerdings änderte Lithiumvorbehandlung das Metabolitenmuster von NA. In Hirnen von Lithiumtieren wurde geringfügig, aber signifikant mehr NM bestimmt als in Hirnen von Kontrolltieren. Dafür werden in Hirnen von Lithiumtieren weniger DH - Verbindungen als bei Kontrolltieren bestimmt. Allerdings ist diese Differenz nicht signifikant. Die MH - Verbindungen beider Gruppen waren gleich.

Tabelle 6

Stoffwechsel von 7^3H -NA 8 Uhr im Stammhirn

ohne Reserpin		mit Reserpin		
Kontrolltiere (6)		Kontrolltiere (7)	Lithiumtiere (7)	Differenz (Li-K)
NA	$63,97 \pm 4,10$	$18,11 \pm 4,48$	$18,80 \pm 2,95$	+ 0,71
NM	$7,27 \pm 1,30$	$8,34 \pm 1,24$	$10,07 \pm 1,62$	+ 1,73 *
DH	$11,48 \pm 1,92$	$29,17 \pm 2,12$	$27,13 \pm 4,19$	- 2,04
MH	$17,12 \pm 1,54$	$44,01 \pm 5,21$	$44,00 \pm 3,14$	- 0,01
cpm/g	211307	141195	156972	

7^3H -NA Metabolismus in Stammhirnen von Lithiumtieren und Kontrolltieren zwischen 8 Uhr und 10 Uhr nach Vorbehandlung mit Reserpin (3 mg/kg s. c. 21 Uhr) 7^3H -NA wurde intracisternal injiziert, 2 Stunden nach 7^3H -NA wurden die Tiere dekapitiert. Dünnschichtchromatographische Isolierung von 7^3H -NA und den Hauptmetaboliten. Prozentualer Anteil der Gesamtaktivität. Anzahl der Tiere in Klammern. cpm/g = Gesamtaktivität im Hirn.

x) = 0,05

Diese Ergebnisse lassen sich in der Weise deuten, daß zu einem späteren Zeitpunkt der Reserpinvorbehandlung in Hirnen von Lithiumtieren NA nicht in gleichem Ausmaß wie in Hirnen von Kontrolltieren intrazellulär metabolisiert wurde. Auch der höhere NM Anteil der Lithiumtiere kann als Hinweis dafür gesehen werden, daß in Hirnen von Kontrolltieren das als Folge der Reserpinwirkung intrazellulär vorliegende NA mehr als bei Lithiumtieren über MAO metabolisiert wurde.

D III 2 c. Zusammenfassung und Diskussion

Wir fanden bei unseren Versuchen, daß der Beginn der Sedation nach Reserpin bei Kontrolltieren von der Tageszeit abhängig war, zu der Reserpin appliziert wurde. Bisher wurde dieses Phänomen nicht beschrieben. Lithiumtiere reagierten auf Reserpinapplikation zu jedem Zeitpunkt mit einer Sedation, die ebenso lang anhielt wie bei Kontrolltieren. In beiden Gruppen war der Reserpineffekt in den ersten 3 Stunden in der Ruhephase und in der Aktivitätsphase ähnlich. Die motorische Aktivität nahm nach Reserpin in der Aktivitätsphase in den ersten Stunden in beiden Gruppen ab. (Abb. 8A, 8B, 8C) Dagegen wurde nach Reserpin in der Ruhephase ein geringfügiger Anstieg der motorischen Aktivität beider Gruppen registriert. (Abb. 9A, 9B) Am Anfang der Reserpinwirkung ist vor allem die Aufnahme von NA in die Speichergranula gestört. (2, 74) Diese etwa 18 Stunden dauernde Phase ist mit den stärksten pharmakologischen Wirkungen von Reserpin korreliert. (69)

Die Zunahme der motorischen Aktivität von Tieren beider Gruppen nach Reserpin in der Ruhephase kann möglicherweise darauf zurückgeführt werden, daß ein unphysiologisch hoher Anteil an NA, das als Folge der Reserpinwirkung nicht von den Speichergranula aufgenommen wird, zur Reaktion mit dem noradrenergen Rezeptor zur Verfügung steht. Wenn Reserpin in der Aktivitätsphase gegeben wurde, in der ein höherer Ausgangsspiegel von NA als in der Ruhephase vorliegt, folgte eine Abnahme der motorischen Aktivität beider Gruppen. Möglicherweise kann diese Abnahme auf eine paradoxe Reaktion zurückgeführt werden, die als Mechanismus für eine Wirkung von Amphetamin diskutiert wird. (38)

Erst nach 3 bzw. 6 Stunden unterschieden sich Kontrolltiere von Lithiumtieren nach Reserpingabe um 21 Uhr durch höhere motorische Aktivität. Dieser bei Kontrolltieren von der circadianen Rhythmik abhängige Effekt fehlte bei den Lithiumtieren.

Eine Abhängigkeit von der Tageszeit in der durch Reserpin bewirkten Entleerung der NA Speicher wurde 1969 zum Zeitpunkt der vorliegen-

den Arbeit beschrieben.(11) In unseren Experimenten wurde zum ersten Male gezeigt, daß auch der Reserpineinfluß auf die motorische Aktivität von der circadianen Rhythmik abhängig ist. Die Reserpinwirkung war in der Untersuchung von BLACK et. al. (11) nur im Hirn von Ratten, nicht dagegen am Herzen oder an der Speicheldrüse von der Tageszeit abhängig. Bei der Interpretation dieser Wirkung von Reserpin griffen die Autoren auf eine schon früher formulierte Hypothese zurück, nach der mindestens 2 unterschiedlich auf Reserpin reagierende NA Speicher in einem Neuron vorliegen. (81) Nach der Empfindlichkeit gegen Reserpin wird in der Literatur zwischen einem "Reserpin sensitiven" und einem "Reserpin resistenten" Speicher für NA unterschieden. Ob der -hypothetische- "Reserpin sensitive" mit dem -hypothetischen- "stabilen" NA Speicher identisch ist, konnte bisher nicht eindeutig belegt werden. Eine Normalisierung der noradrenergen Funktionen beginnt jedoch bereits 48 Stunden nach Reserpin (4) und nach wiederholter Applikation von Reserpin wird bei niedrigem Aminspiegel eine Aktivitätssteigerung beschrieben. (68) An der Aktivität des noradrenergen Systems ist demnach nicht das gesamte NA beteiligt, das unter Normalbedingungen bestimmt werden kann.

Aus verschiedenen Untersuchungen geht hervor, daß das "labil" gespeicherte funktionale NA von Reserpin nicht in gleicher Weise gestört wird wie das "stabil" gespeicherte. Die Autoren, die eine Abhängigkeit von der Tageszeit in der nach Reserpin einsetzenden Verarmung des Rattenhirns an NA gefunden haben, interpretieren ihren Befund damit, daß dieser Effekt durch die Speichergranula von NA bedingt sein kann. Sie halten für möglich, daß die Anzahl der Nervenimpulse, die in verschiedenen Aktivitätsstadien auf ein Neuron auftreten, die an den Speichervesikeln beobachtete unterschiedliche Empfindlichkeit gegen Reserpin steuern. (11) Dieser Mechanismus, der die circadiane Rhythmik der Reserpinwirkung bedingt, ist nach den Ergebnissen unserer Experimente bei den Lithiumtieren gegenüber Kontrolltieren verändert.

Möglicherweise wurde in den Hirnen von Lithiumtieren NA anders gespeichert als in Hirnen von Kontrolltieren. Für eine veränderte Speicherfähigkeit für NA in den Hirnen von Lithiumtieren sprechen die

Ergebnisse unserer biochemischen Untersuchungen. 2 Stunden nach Reserpin wurde in Hirnen von Lithiumtieren signifikant mehr endogenes NA bestimmt als in Hirnen von Kontrolltieren. (Tab. 4) Nach intracisternaler Injektion von 7^3H -NA wurden die Gehirnregionen verworfen, deren NA Gehalt gering ist. (26) In den untersuchten NA reichen Arealen wurde exogen zugeführtes NA in Hirnen von Lithiumtieren trotz Reserpinvorbehandlung in den ersten Stunden besser gespeichert als in Hirnen von Kontrolltieren. (Tab. 5) Zwischen der 11. und der 13. Stunde nach Reserpin war dieser Lithiumeffekt allerdings nicht mehr nachzuweisen. (Tab. 6) Eine frühere Untersuchung hatte eine verzögerte Freisetzung von NA nach elektrischer Reizung gezeigt, wenn Li^+ dem Inkubationsmedium zugesetzt wurde. (34) Eine verbesserte Aufnahme von NA durch Synaptosomen wurde gefunden, wenn Li^+ in vitro (17) oder in vivo (9) gegeben wurde. Wenn durch chronische Lithiumbehandlung eine Veränderung der neuronalen NA Speicherfähigkeit eintritt, kann dieser Effekt an die aktuelle Li^+ Konzentration gebunden sein. Die Lithiumtiere nahmen nach Reserpinbehandlung kein Lithium mehr auf, das im Futter enthalten war. Die Li^+ Konzentration im Serum der Tiere hatte deshalb 11 Stunden nach Reserpin schneller abgenommen als das intrazellulär vorliegende Li^+ .

Der NA Metabolismus verlief zwischen der 11. und der 13. Stunde nach Reserpinvorbehandlung in den Hirnen von Tieren beider Gruppen ähnlich, obwohl sich Kontrolltiere zu dieser Zeit von Lithiumtieren durch höhere motorische Aktivität unterschieden. Denkbar ist, daß Reserpin die Austauschbarkeit zwischen "labil" und "stabil" gespeichertem NA beeinflußt. Wenn Reserpin die "stabile" Speicherung verhindert, dann verändert sich möglicherweise auch die "labile" Speicherung. Die Zunahme der motorischen Aktivität von Kontrolltieren könnte dann durch Zunahme von noradrenergen Funktionen interpretiert werden.

Die Aktivität der Kontrolltiere, die nur nach Reserpingabe um 21 Uhr auftrat, konnte als stereotype Hyperaktivität bezeichnet werden, wie sie von der Arbeitsgruppe um RANDRUP beschrieben wurde. (60) Die dänischen Forscher haben einige Stunden nach Reserpin, das allerdings in der Ruhephase und in höherer Dosierung gegeben wurde,

an Ratten eine Hyperaktivität beobachtet, die sie mit anticholinerg wirkenden Substanzen unterbrechen konnten. (54) Nach ihrer Interpretation ist das von ihnen beschriebene Verhalten nach Reserpingabe auf eine Störung des Gleichgewichtes zurückzuführen, das unter physiologischen Bedingungen zwischen CA auf der einen und ACh auf der anderen Seite besteht. (53) Die Befunde, daß die cerebrale Konzentration an ACh einer circadianen Rhythmik unterliegt, (29, 52) vereinen die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit - die motorische Aktivität betreffend - mit der Hypothese von der "counterbalance" der dänischen Forscher. Denn auch die NA Konzentration ändert sich im Verlauf von 24 Stunden. (43, 51) Seit kurzer Zeit muß davon ausgegangen werden, daß im Rattenhirn bei Licht eine höhere Konzentration an ACh vorliegt als bei Dunkelheit. (29, 52) Von einem Einfluß von Li^+ auf cholinerge Neurone wird seit längerer Zeit berichtet. (5, 6, 79) Am eindrucksvollsten ist in diesem Zusammenhang die 1971 veröffentlichte Untersuchung, in der Li^+ nach physiologischer Reizung zu einer Abnahme der cortikalen Freisetzung von ACh führte. (10) Wenn als Folge chronischer Lithiumgabe die Sensitivität von cholinergen Rezeptoren verändert und/oder die ACh Freisetzung durch chronische Lithiumgaben vermindert ist, wirkt sich eine durch Reserpin hervorgerufene Störung des Gleichgewichtes zwischen CA und ACh bei Lithiumtieren nicht so stark aus wie bei Kontrolltieren. Wenn Reserpin aber um 23 Uhr gegeben wurde, nachdem der erste Gipfel der motorischen Aktivität beider Gruppen vorüber war, fehlte auch bei Kontrolltieren die nach Reserpin in der gleichen Dosierung um 21 Uhr überschießende Aktivität.

Zukünftige Untersuchungen werden klären müssen, ob auch in der Aktivitätsphase ähnlich wie in der Schlafphase ein Oszillieren der verschiedenen Neurotransmitter für das Aktivitätsprofil der entsprechenden Phase verantwortlich ist. Seit längerer Zeit wird versucht, das unter verschiedenen pharmakologischen Bedingungen zu Tage tretende Zusammenspiel zwischen NA und ACh aufzuklären. (14, 33) Möglicherweise kann erst später eine Erklärung dafür gefunden werden, daß in unseren Experimenten Reserpin zu Beginn der Aktivitätsphase bei Kontrolltieren zu einer Hyperaktivität führte.

D III 3. Diskussion der Ergebnisse verschieden wirkender Pharmaka

Verschiedene Arten der NA Speicherung liegen in einem Neuron vor. (49) Die Unterscheidung zwischen einem "labilen" und einem "stabilen" Speicher für NA ist zwar anschaulich, mit diesen Bezeichnungen wird allerdings über die biochemischen Bedingungen der verschiedenen Formen der NA Speicherung nichts ausgesagt. Bis heute konnte nicht geklärt werden, wann und aus welchem Anlaß NA von dem einen Zustand der Speicherung in den anderen übergeht. Der Umfang der verschiedenen NA Speicher variiert nach Ansicht von ZIGMOND und WURTMAN mit der Tageszeit. (82) Diese Autoren fanden, daß neu synthetisierte CA bei Licht mit einem größeren Anteil der endogenen CA equilibrieren als bei Dunkelheit. Diese Untersuchungen wurden an Ratten durchgeführt, die in der Dunkelheit aktiv sind. Der "labile" Speicher, der neu synthetisierte CA aufnimmt und freisetzt, ist also in der Ruhephase kleiner als in der Aktivitätsphase, so daß neu synthetisierte CA sich dafür in der Ruhephase auf einen größeren Anteil an endogenen CA verteilen. Auch das Ausmaß, in dem die endogene NA Konzentration nach Reserpin abnimmt, unterliegt einer circadianen Rhythmik. (11)

In unseren Experimenten wirkte sich chronische Lithiumbehandlung in der Weise aus, daß sowohl das "labil" wie auch das "stabil" gespeicherte NA vor dem Einfluß von Pharmaka geschützt war, die an diesen beiden verschiedenen Speichern angreifen. Die Lithiumwirkung konnte zunächst an dem Einfluß beider Pharmaka auf die motorische Aktivität demonstriert werden. Die anschließende biochemische Analyse zeigte dann, daß auch der NA Metabolismus in Hirnen von Lithiumtieren anders beeinflußt wurde als in Hirnen von Kontrolltieren.

In den Experimenten mit AMPT blieb die motorische Aktivität nur nach chronischer Lithiumbehandlung erhalten, nicht dagegen nach kurzfristiger. Bis heute liegt noch keine andere Untersuchung vor, in der tierexperimentell die Lithiumwirkung nach chronischer Verabreichung von der akut einsetzenden Wirkung unterschieden werden kann.

Die durch chronische Lithiumbehandlung ausgelöste Veränderung des

NA Metabolismus und des von NA abhängigen Verhaltens wurden in der Aktivitätsphase von Ratten gefunden. In unseren Experimenten konnte zum ersten Male gezeigt werden, daß der Einfluß von Reserpin auf die motorische Aktivität von der circadianen Rhythmik abhängt. Diese Beobachtung wird von der Untersuchung einer Arbeitsgruppe von AXELROD (11) gestützt, die zum Zeitpunkt unserer Untersuchungen veröffentlicht wurde. Diese Autoren fanden, daß die durch Reserpin eintretende Abnahme der endogenen NA Konzentration im Rattenhirn einer circadianen Rhythmik unterliegt. Ein Vergleich unserer Ergebnisse ist deswegen außerordentlich schwierig, weil in anderen Arbeiten nur selten die Tageszeit angegeben wird, zu der Experimente durchgeführt wurden. Bisher wurde der Einfluß von Pharmaka auf den NA Metabolismus vorwiegend in der Ruhephase von Ratten untersucht.

Nach klinischen Berichten ist die Therapie und Prophylaxe mit Lithium nur bei manisch-depressiven Erkrankungen erfolgreich. (8) Da es sich dabei um einen Zustand handelt, der in gewissen Zyklen auftritt, sollte dem Einfluß chronischer Lithiumgabe auf zyklisch verlaufende Verhaltensveränderungen besondere Beachtung geschenkt werden. Der Tag-Nacht-Rhythmus der motorischen Aktivität blieb in unseren Experimenten bei Lithiumtieren anders als bei Kontrolltieren erhalten, obwohl die NA Biosynthese beider Gruppen durch AMPT gehemmt war. Bis heute ist völlig ungeklärt, in welcher Weise die Art der NA Speicherung sich auf die NA Biosynthese auswirkt. Die schematische Darstellung der noradrenergen Nervenendigung (Abb. 1) läßt erkennen, daß die Endprodukt Hemmung der Hydroxylierung von Tyrosin zu DOPA vermutlich auf den NA Anteil zurückgeführt werden muß, der nach Wiederaufnahme in die Nervenzelle noch nicht gespeichert ist.

Da in unseren Experimenten auch die endogene NA Konzentration in Hirnen von Lithiumtieren höher als in Hirnen von Kontrolltieren nach beiden verschiedenen angreifenden Pharmaka bestimmt wurde, lassen unsere Ergebnisse die Problematik der heute weithin gebräuchlichen turnover-Studien erkennen. Die höhere motorische Aktivität der Lithiumtiere ließ einen höheren NA Verbrauch und damit nach Hemmung der Biosynthese einen geringeren NA Gehalt in den Hirnen dieser Tiere erwarten. Die NA Konzentration wurde in den Hirnen von Lithium-

tieren in unseren Experimenten jedoch höher bestimmt als in den Hirnen von Kontrolltieren. Wenn bei gehemmter Biosynthese die motorische Aktivität zusammen mit dem endogenen NA Gehalt unter Lithiumeinfluß höher als bei Kontrolltieren ist, kann angenommen werden, daß der NA Stoffwechsel in den Hirnen von Lithiumtieren ökonomischer als in Hirnen von Kontrolltieren verläuft.

Der NA Stoffwechsel wurde nach Reserpin untersucht. Interessante Veränderungen fanden wir zwischen der 3. und 5. Stunde nach Reserpinvorbehandlung. In Hirnen von Lithiumtieren war nur der als NM bestimmte Anteil ebenso hoch wie in Hirnen von Kontrolltieren. Da NM extrazellulär gebildet wird, nachdem NA mit dem Rezeptor reagiert hat, (37) zeigt dieses Ergebnis, daß die Aktivität des noradrenergen Systems in Hirnen von Lithiumtieren ebenso hoch war wie in Hirnen von Kontrolltieren. Dagegen waren die desaminierten ebenso wie die O-methylierten desaminierten Verbindungen bei Lithiumtieren geringer als bei Kontrolltieren. Gleichzeitig wurde in Hirnen von Lithiumtieren mehr NA nachgewiesen. Wenn das Aktionspotential durch eine Sensibilisierung des NA Rezeptors mit einem geringeren NA Quantum bei Lithiumtieren erreicht würde, ließe sich zwar der höhere NA Anteil in den Hirnen von Lithiumtieren verstehen. NM wäre dann aber in den Hirnen von Lithiumtieren geringer als bei Kontrolltieren. Wenn in den Hirnen von Tieren beider Gruppen ein ankommender Nervenimpuls das gleiche NA Quantum freisetzte, wurde in den Hirnen von Lithiumtieren und Kontrolltieren die gleiche NA Menge in die Nervenzellen aufgenommen. Intrazellulär wurde dann aber bei Kontrolltieren mehr NA von dem Enzym MAO metabolisiert. In den Hirnen von Lithiumtieren wurde NA vermutlich durch einen Einfluß von Li^+ auf die Speicherfähigkeit der enzymatischen Reaktion entzogen.

Der Reserpineffekt war nur bei Kontrolltieren, nicht dagegen bei Lithiumtieren, von der Aktivitätsstufe der Tiere abhängig. Aus unseren Experimenten mit verschiedenen angreifenden Pharmaka können wir schließen, daß Lithiumbehandlung in die Vorgänge eingreift, die an dem Übergang von einem Stadium mit hoher Aktivität in ein Stadium der Ruhe beteiligt sind.

D IV. NA Stoffwechsel in Abhängigkeit von der circadianen Rhythmik

Die Bedeutung des Aktivitätsstadiums von Versuchstieren ging aus unseren Ergebnissen der Experimente mit Reserpin hervor. Der Reserpineffekt ist eng mit dem Aminstoffwechsel verknüpft. Obwohl verschiedentlich gezeigt wurde, daß die endogene NA Konzentration in verschiedenen Gehirnnarealen sich in unterschiedlichen Aktivitätsstadien in 24 Stunden ändert, wurde der Stoffwechsel von NA in Abhängigkeit von der Tageszeit bis heute nicht untersucht.

Tabelle 7

NA Metabolismus in der Ruhephase und in der Aktivitätsphase

Ruhephase (6)	Aktivitätsphase (6)	Differenz Ruhephase Aktivitätsphase
NA 63,97 $\pm$ 4,10	56,70 $\pm$ 3,77	- 7,27 x)
NM 7,27 $\pm$ 1,30	6,35 $\pm$ 1,09	- 0,95
DH 11,48 $\pm$ 1,92	13,37 $\pm$ 1,55	+ 1,89 x)
MH 17,12 $\pm$ 1,54	23,47 $\pm$ 2,92	+ 6,35 x)
cpm/g 211307	243907	

7^3H -NA Metabolismus im Stammhirn von Ratten zwischen 0 Uhr und 2 Uhr und zwischen 8 Uhr und 10 Uhr. 7^3H -NA wurde intracisternal injiziert. Die Metaboliten von NA wurden nach 2 Stunden nach Dekapitation der Tiere isoliert. Prozentualer Anteil der Gesamtaktivität. Anzahl der verwendeten Tiere in Klammern.

cpm/g = Gesamtaktivität im Hirn

x) p = 0,05

Da der Reserpineffekt nur bei Kontrolltieren anders als bei Lithiumtieren von der Aktivitätsstufe abhing, untersuchten wir den NA Metabolismus in Hirnen von Kontrolltieren zwischen 0 und 2 Uhr in der Mitte des Aktivitätsstadiums und zwischen 8 und 10 Uhr zu Beginn der Ruhephase.

Nach intracisternaler Injektion von 7^3H -NA um 0 Uhr und um 8 Uhr untersuchten wir 2 Stunden später die radioaktiv markierten Verbindungen in den Stammhirnen von Kontrolltieren. (Tab. 7) Der Anteil an unverändertem NA wurde in der Ruhephase (8 - 10 Uhr) mit 63,97 % signifikant höher gefunden als in der Aktivitätsphase (0 - 2 Uhr), in der 56,7 % NA bestimmt wurden. In der Aktivitätsphase wurde NA also stärker metabolisiert als in der Ruhephase. Das zeigte sich in unseren Experimenten in der Weise, daß sich der in der Ruhephase um etwa 7 % höhere Anteil an unverändertem NA in der Aktivitätsphase auf die Fraktionen der DH- und MH-Verbindungen verteilte. In der Aktivitätsphase wurden mit 13,37 % signifikant mehr DH-Verbindungen gefunden als in der Ruhephase (11,48 %). Der als MH bestimmte Anteil war in der Aktivitätsphase noch mehr angestiegen. Mit 23,47 wurden in der Aktivitätsphase signifikant mehr als in der Ruhephase bestimmt. (17,12 %)

Die Differenz des NM Wertes ist mit 0,95 nicht signifikant. Unsere Ergebnisse zeigten, daß in der Aktivitätsphase nur die Metaboliten von NA angestiegen waren, die intrazellulär von MAO oder von MAO in Kombination mit COMT katalysiert werden.

Entgegen unseren Erwartungen war der als NM bestimmte Anteil in der Aktivitätsphase ebenso hoch wie in der Ruhephase. Da NM ausschließlich durch Aktivität des extrazellulären Enzyms COMT entsteht, erwarteten wir gerade in der Aktivitätsphase mehr NM als in der Ruhephase. In den Hirnen von Ratten schien in unseren Untersuchungen der O-Methylierung durch COMT die oxydative Desaminierung durch MAO in der Aktivitätsphase zu folgen. Die Reihenfolge der Reaktionsschritte ist nach Ansicht von KOPIN variabel. (37) Aus den Ergebnissen unserer Untersuchungen kann nicht entschieden werden, ob das beteiligte Enzym MAO in der Nervenzelle oder in angrenzenden Zellen lokalisiert ist.

E ZUSAMMENFASSUNG UND DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Zum Zeitpunkt der vorliegenden Arbeit wurde ausschließlich der Einfluß von Lithiumgaben nach i. p. Injektion von Lithiumsalzen untersucht. Für die Experimente, in denen der Wirkungsmechanismus der prophylaktischen antidepressiven Wirksamkeit von Li^+ untersucht werden sollte, entwickelten wir eine Darreichungsform für Ratten, in der die Tiere regelmäßig eine bestimmbare Lithiummenge oral aufnahmen. Bis heute sind 2 schwedische Arbeiten bekannt geworden, in denen Ratten über längere Zeit mit Lithium behandelt wurden. (21, 61) In diesen Untersuchungen wurde ebenso wie in der vorliegenden Arbeit das Futter der Tiere mit LiCl Zusatz präpariert. Der Vergleich unserer Ergebnisse mit diesen Publikationen läßt erkennen, daß die Zusammensetzung des jeweils verwendeten Standardfutters die Verträglichkeit von LiCl beeinflusst. Sie sollte deshalb nachzuprüfen sein. Da eine zusätzliche Gabe von Na^+ die Verträglichkeit von Li^+ nach i. p. Injektion von LiCl verbessert (64), ist vermutlich die unterschiedliche Li^+ Toleranz auf eine verschiedene Na^+ Konzentration im Futter zurückzuführen. Die im Futter enthaltene und täglich aufgenommene Na^+ Menge muß deshalb aus den Publikationen erkennbar sein, damit verschiedene Untersuchungen vergleichbar werden. In unseren Experimenten, in denen LiCl in 3 verschiedenen Konzentrationen dem Futter von Ratten zugesetzt wurde (D I 1 a, b, c), vertrugen die Tiere über längere Zeit nur die beiden schwächeren Dosierungen (20 und 30 mval/kg). Nach der höchsten in unseren Experimenten untersuchten LiCl Dosis (40 mval/kg) traten Nebenwirkungen auf, die das Futter für chronische Gaben unbrauchbar machten.

Deshalb behandelten wir Ratten für mindestens 28 Tage mit der mittleren LiCl Dosis (30 mval/kg). Die Li^+ Serum Konzentration, die von Ratten bei chronischer Gabe von Lithium toleriert wird, war zum Zeitpunkt unserer Untersuchungen noch nicht bekannt. Eine täglich aufgenommene Menge von 0,6 - 0,7 mval Li^+ führte bei den von uns verwendeten Tieren zu 0,6 - 0,8 mval Li^+ /l Serum. In dieser Konzentration traten in unseren Experimenten auch bei länger dauernder Lithiumgabe keine toxischen Symptome auf.

CORRODI et al. (21) behandelten die Ratten ihrer Untersuchungen mit 0,4 - 0,5 mval Li^+ /Tag, jedoch wird die Li^+ Konzentration nach 3 Wochen im Serum ebenso wie im Hirn der Tiere mit 0,5 - 1,5 mval/l bzw. kg bestimmt. Bei den von uns verwendeten Tieren traten Nebenwirkungen regelmäßig dann auf, wenn Li^+ im Serum höher als 1 mval/l gefunden wurde. Allerdings führte die hohe Li^+ Konzentration von 0,5 - 1,5 mval/l nach 3 Wochen dazu, daß einige Tiere starben oder daß Polyurie und Diarrhoe auftraten.

Nach den Ergebnissen unserer Untersuchungen sollte neben der Na^+ Konzentration im Futter außerdem die Zeit angegeben werden, die zwischen der letzten Aufnahme von Li^+ mit dem Futter und der Entnahme von Blut liegt, in dem Li^+ bestimmt wird. In unseren Experimenten fanden wir, daß im Laufe eines Tages die Li^+ Konzentration im Serum um ca. 0,2 mval abnahm. (D I 2)

Nach i. p. Injektion von LiCl nimmt die Li^+ Konzentration im Serum von Ratten bereits 2 Stunden später ab. (40) Die Forderung nach Depot-Präparaten von Lithiumzubereitungen für die Therapie (8) ergibt sich aus der raschen Eliminierung von Lithium.

In unseren Experimenten führte Lithiumzusatz zum Futter dazu, daß die Tiere von diesem Futter weniger als von dem Standardfutter fraßen. Mit zunehmendem LiCl Gehalt im Futter verringerte sich die Futteraufnahme der Tiere. Bei der Aufzeichnung der motorischen Aktivität von Tieren beider Gruppen (D II) konnten wir feststellen, daß nur bei Kontrolltieren die motorische Aktivität eine gewisse Rhythmik erkennen ließ. Die bei Kontrolltieren in regelmäßigen Abständen aufgezeichneten Gipfel der motorischen Aktivität können in der Weise interpretiert werden, daß die Futteraufnahme dieser Tiere in einigermaßen stabilen Intervallen stattfand. Möglicherweise fraßen die Lithiumtiere von dem LiCl enthaltendem Futter geringere Mengen, dafür fraßen sie aber häufiger. In welcher Weise sich der NA Metabolismus während der Aktivitätsphase verändert und die Rhythmik der motorischen Aktivität beeinflusst, ist bis heute nicht untersucht worden. Ein veränderter NA Metabolismus in der Aktivitätsphase gegenüber der Ruhephase konnte in der vorliegenden Arbeit zum ersten

Male nachgewiesen werden. (D IV)

Unsere Ergebnisse zeigten, daß nach chronischer Behandlung mit Lithium bei Ratten der Tag-Nacht Rhythmus der motorischen Aktivität erhalten blieb. (D II) Die spontane motorische Aktivität ist eng mit dem CA Stoffwechsel und mit dem Antrieb verknüpft. (22, 46) Nach i.p. Injektion von LiCl wurden Ratten als "reduziert in der spontanen Aktivität" bezeichnet. (28, 64, 73) Die Aufzeichnung der motorischen Aktivität mit "Animex" Geräten in unseren Experimenten ließ erkennen, daß diese Beobachtung auf chronisch mit Lithium behandelte Tiere nicht zutrifft. Möglicherweise ist die in anderen Untersuchungen auftretende Aktivitätsabnahme nach akuter Gabe von LiCl in hoher Dosierung auf toxische Wirkungen von Li^+ zurückzuführen, denn die Konzentration an Li^+ im Serum der sedierten Tiere wird um 3 mval/l angegeben. (73)

An dem Vergleich der circadianen Rhythmik der motorischen Aktivität von Lithiumtieren und Kontrolltieren konnte demonstriert werden, daß chronische Lithiumbehandlung nicht zu einer qualitativen Veränderung dieser Rhythmik führte. Der charakteristische Wechsel von einem Stadium mit hoher motorischer Aktivität mit einer 12stündigen Ruhephase blieb bei chronisch mit Lithium behandelten Tieren erhalten.

Aus verschiedenen Untersuchungen geht hervor, daß die NA Speicherung einer circadianen Rhythmik unterliegt. (11, 82) Der "labile" Speicher mit hoher NA Umsatzrate (59) ist in der Aktivitätsphase größer als in der Ruhephase (82). Deshalb untersuchten wir den Einfluß chronischer Lithiumgaben auf den NA Stoffwechsel in der Aktivitätsphase von Ratten. Unsere Ergebnisse zeigten, daß chronische Lithiumbehandlung die Wirkung von Pharmaka in der Aktivitätsphase verändert, die über verschiedene Angriffspunkte zu einer Abnahme an endogenem NA führen. (D III) In unseren Experimenten beeinflusste chronische Lithiumgabe sowohl die Wirkung von AMPT (D III 1) wie auch die Wirkung von Reserpin. (D III 2) Von diesen Pharmaka wird bevorzugt der "labile" oder der "stabile" NA Speicher betroffen. Nach Hemmung der NA Biosynthese durch AMPT war bei Lithiumtie-

ren sowohl die motorische Aktivität (D III 1 a) wie auch die endogene NA Konzentration (D III 1 c) in den Hirnen dieser Tiere höher als bei Kontrolltieren. Dieses Ergebnis steht im Widerspruch zu der Prämisse für turnover Studien und wird diskutiert. (D III 1 e) Die Überlegung, daß bei gehemmter Biosynthese die NA Abnahme ein Maß für die Aktivität des noradrenergen Systems ist, trifft bei chronischer Lithiumbehandlung nach den Ergebnissen unserer Untersuchungen nicht zu. Dieser Lithiumeffekt trat nur bei Tieren auf, die 28 Tage und länger mit LiCl behandelt waren. Bei Tieren, die nur 4 Tage mit LiCl behandelt waren, nahm die motorische Aktivität ähnlich wie bei Kontrolltieren ab. (D III 1 b) Mit diesen Experimenten kann zum ersten Male ein Unterschied in der Wirkung von chronischer und akuter Lithiumbehandlung bei einer zyklisch verlaufenden Verhaltensveränderung am Tier demonstriert werden.

Zum Zeitpunkt unserer Untersuchungen wurde gefunden, daß die endogene NA Konzentration nach Reserpin in Hirnen von Ratten in der Dunkelheit rascher als bei Licht abnimmt. (11) Auch in unseren Experimenten war der Einfluß von Reserpin auf die motorische Aktivität bei Kontrolltieren, allerdings nicht bei Lithiumtieren, von der Tageszeit abhängig.

Wenn Reserpin in 2 Dosierungen zur Zeit des ersten Gipfels der motorischen Aktivität von unbehandelten Tieren beider Gruppen injiziert wurde, folgte bei Kontrolltieren anders als bei Lithiumtieren auf eine anfängliche Sedation dosisabhängig ein Stadium mit motorischer Hyperaktivität. (D III 2 a - 1) Dieser Effekt wird in der vorliegenden Arbeit zum ersten Male beschrieben. Wenn Reserpin entweder in 2 verschiedenen Zeitpunkten in der Ruhephase (D III 2 a - 3, a - 4) oder in der Aktivitätsphase in einem Tiefpunkt der motorischen Aktivität von unbehandelten Tieren (D III 2 a - 2) gegeben wurde, trat dieses Phänomen nicht auf.

Auch die biochemischen Analysen zeigten, daß Reserpin in Hirnen von Kontrolltieren die endogene NA Konzentration (D III 2 b - 1) und den NA Metabolismus (D III 2 b - 2) anders beeinflusste als in Hirnen von Lithiumtieren. Kurz nach Reserpin wurde in Hirnen von Lithiumtieren

mehr NA bestimmt als in Hirnen von Kontrolltieren. (D III 2 b - 1)
Chronische Lithiumbehandlung veränderte in unseren Experimenten auch den NA Metabolismus nach Reserpin. (D III 2 b - 2)

Nach Reserpinvorbehandlung um 21 Uhr wurde der NA Metabolismus nach intracisternaler Gabe von 7^3 H-NA in den Stammhirnen beider Gruppen in der 3. - 5. Stunde (D III 2 b - 2.) und in der 11. - 13. Stunde (D III 2 b - 3) nach Reserpin untersucht. In Hirnen von Lithiumtieren wurde zwischen der 3. und 5. Stunde nach Reserpin mehr NA nachgewiesen als in Hirnen von Kontrolltieren. Der höhere NA Anteil der Lithiumtiere entsprach in diesen Experimenten dem DH- und MH-Anteil bei Kontrolltieren. Trotz Reserpinvorbehandlung wurde NA in den Stammhirnen von Lithiumtieren besser gespeichert als in Hirnen von Kontrolltieren. Zu einem späteren Zeitpunkt nach Reserpinvorbehandlung war dieser Lithiumeffekt nicht mehr nachweisbar.

Der NA Metabolismus wurde in der Aktivitätsphase und in der Ruhephase in Hirnen von Kontrolltieren untersucht. (D IV) In der Ruhephase wurde NA höher bestimmt als in der Aktivitätsphase. Dafür war der DH- und MH-Anteil in der Ruhephase geringer. In der Ruhephase ist der "stabile" Speicher größer als in der Aktivitätsphase. (11) Unsere Untersuchung läßt erkennen, daß das Aktivitätsstadium von Versuchstieren berücksichtigt werden sollte, wenn der NA Metabolismus untersucht wird.

Die Veränderung des NA Metabolismus in verschiedenen Aktivitätsstadien bei Kontrolltieren war dem Lithiumeffekt nach Reserpin ähnlich. Nach AMPT wurde ebenso wie nach Reserpin in den Hirnen von Lithiumtieren mehr endogenes NA als in Hirnen von Kontrolltieren bestimmt. Auch die motorische Aktivität beider Gruppen wurde durch beide Pharmaka unterschiedlich beeinflusst. Die Ergebnisse unserer Untersuchungen lassen darauf schließen, daß unter Lithiumbehandlung der NA Stoffwechsel ökonomischer verläuft. Als Mechanismus dieses NA "einsparenden" Lithiumeffektes ist eine Veränderung der neuronalen NA Speicherung denkbar. Die NA Aufnahme in die Speichergranula ist Na^+ abhängig. (12) Möglicherweise verändert sich durch Einwirkung von Lithium die Austauschbarkeit zwischen "labil" und "stabil" gespeichertem NA.

LITERATURVERZEICHNIS

- (1) Ackenheil, M.: Beitrag zum Noradrenalin- und Serotonin-Stoffwechsel im Zentralnervensystem unter verschiedenen physiologischen und pharmakologischen Bedingungen. Inaugural-Dissertation München 1968
- (2) Alpers, H.S. and Shore, P.A.: Specific Binding of Reserpine-Association with Norepinephrine Depletion. *Biochem. Pharmacol.* 18 (1969) 1363 - 1372
- (3) Andén, N.E., Corrodi, H., Dahlström, A., Fuxe, K., and Hökfelt, T.: Effects of Tyrosine Hydroxylase Inhibition on the Amine Levels of Central Monoamine Neurons. *Life Sciences* 5 (1966) 561 - 568
- (4) Andén, N.E. and Henning, M.: Adrenergic Nerve Function, Noradrenaline Level and Noradrenaline Uptake in Cat Nictitating Membrane after Reserpine Treatment. *Acta physiol. scand.* 67 (1966) 498 - 504
- (5) Arnett, C.J. and Ritchie, J.M.: On the Permeability of Mammalian Nonmyelinated Fibres to Sodium and to Lithium Ions. *J. Physiol.* 165 (1963) 130 - 140
- (6) Arnett, C.J. and Ritchie, J.M.: The Ionic Requirement for the Action of Acetylcholine on Mammalian Nonmyelinated Fibres. *J. Physiol.* 165 (1963) 141 - 159
- (7) Baastrup, P.C. and Schou, M.: Lithium as a Prophylactic Agent. *Arch. Gen. Psychiat.* 16 (1967) 162 - 172
- (8) Baastrup, P.C.: Practical Clinical Viewpoints Regarding Treatment with Lithium. *Acta psychiat. Scand. Suppl.* 207 (1969) 68 - 78
- (9) Baldessarini, R.J. and Yorke, C.: Effect of Lithium and pH on Synaptosomal Metabolism of Noradrenaline. *Nature* 228 (1970) 1301 - 1303

- (10) Bjegovic, N. and Randic, M.: Effect of Lithium Ions on the Release of Acetylcholine from the Cerebral Cortex. *Nature* 230 (1971) 587 - 588
- (11) Black, J.B., Parker, L., and Axelrod, J.: A Daily Rhythm in the Rate of Depletion of Brain Norepinephrine by Reserpine. *Biochem. Pharmacol.* 18 (1969) 2688 - 2691
- (12) Bogdanski, D.F. and Brodie, B.B.: The Effects of Inorganic Ions on the Storage and Uptake of ^3H -Norepinephrine by Rat Heart Slices. *J. Pharm. Exp. Therap.* 165 (1969) 181 - 189
- (13) Bunney, W.E. jr. and Davis, J.M.: Norepinephrine in Depressive Reactions. *Arch. Gen. Psychiat.* 13 (1965) 483 - 494
- (14) Burn, J.H. and Rand, M.J.: Acetylcholine in Adrenergic Transmission, in *Ann. Rev. Pharmacol.* 5 (1965) 163 - 182
- (15) Catecholamines. *Handb. Exp. Pharm.* XXXIII eds. Blaschko, H. and Muscoll, E. Springer Verlag 1972
- (16) Chang, C.C.: A Sensitive Method for Spectrofluorimetric Assay of Catecholamines. *Int. J. Neuropharmacol.* 3 (1964) 643 - 649
- (17) Colburn, R.W., Goodwin, F.K., Murphy, D.L., Bunney, W.E. jr., and Davis, J.M.: Quantitative Studies of Norepinephrine Uptake by Synaptosomes. *Biochem. Pharmacol.* 17 (1968) 957 - 964
- (18) Colburn, R.W., Goodwin, F.K., Bunney, W.E. jr., and Davis, J.M.: Effect of Lithium on the Uptake of Noradrenaline by Synaptosomes. *Nature* 215 (1967) 1395 - 1397
- (19) Corrodi, H., Fuxe, K., Hökfelt, T. and Schou, M.: The Effect of Lithium on Cerebral Monoamine Neurons. *Psychopharmacologia* (Berlin) 11 (1967) 345 - 353

- (20) Corrodi, H. and Hanson, L.C.F.: Central Effects of an Inhibition of Tyrosine Hydroxylation. *Psychopharmacologia (Berlin)* 10 (1966) 116 - 125
- (21) Corrodi, H., Fuxe, K., and Schou, M.: The Effect of Prolonged Lithium Administration on Cerebral Monoamine Neurons in the Rat. *Life Sciences* 8 (1969) 643 - 651
- (22) Costa, E. and Garattini, S.: *Amphetamines and Related Compounds*. Raven Press, New York, 1970
- (23) Davis, B., Carroll, B.J. and Mowbray, R.M.: *Depressive Illness. Some Research Studies*, Charles Publisher USA 1972
- (24) Doerr und Stamm: Flammenfotometrische Lithium Bestimmung im Serum. Routinemethode zur Überwachung der Lithiumtherapie in der Psychiatrie. *Z. klin. Chem. und klin. Biochem.* 6 (1968) 178
- (25) Giese, J., Rüther, E., and Matussek, N.: Quantitative Estimation of ^3H -Norepinephrine and its Metabolites by Thin-Layer Chromatographie. *Life Sciences* 6 (1967) 1975 - 1982
- (26) Glowinski, J., Kopin, I.J., Axelrod, J.: Metabolism of ^3H -Norepinephrine in the Rat Brain *J. Neurochem.* 12 (1965) 25 - 30
- (27) Giacobini, E.: The Effect of Lithium on the Nerve Cell. *Acta psychiat. Scand. Suppl.* 207 (1969) 85 - 89
- (28) Greenspan, K., Aronoff, M.S., and Bogdanski, D.F.: Effects of Lithium Carbonate on Turnover and Metabolism of Norepinephrine in the Rat Brain - Correlation to Gross Behavioral Effects. *Pharmacology* 3 (1970) 129 - 136
- (29) Hanin, J., Massarelli, R. and Costa, E.: Acetylcholine Concentration in Rat Brain: Diurnal Oscillation *Science* 170 (1970) 341 - 342

- (30) Holzbauer, M. and Vogt, M.: Depression by Reserpine of the Noradrenaline Concentration in the Hypothalamus of the Cat. *J. Neurochem.* 1 (1956) 8
- (31) Ikeda, M., Levitt, M., Udenfriend, S.: Hydroxylation of Phenylalanine by Purified Preparations of Adrenal and Brain Tyrosine Hydroxylase. *Biochem. biophys. Res. Comm.* 18 (1965) 482.488
- (32) Iversen, L.L., Glowinski, J., and Axelrod, J.: The Uptake and Storage of ^3H -Norepinephrine in the Reserpine-Pretreated Rat Heart. *J. Pharm. Exp. Therap.* 150 (1965) 173 - 183
- (33) Janowski, D.S., Davis, J.M., El-Yousef, M.K., Sekerke, H.J./ A Cholinergic-Adrenergic Hypothesis of Mania and Depression. *The Lancet* 23 (1972) 632 - 635
- (34) Katz, R.I., Chase, T.N. and Kopin, I.J.: Evoked Release of Norepinephrine and Serotonin from Brain Sclices: Inhibition by Lithium. *Science* 162 (1968) 466 - 467
- (35) Katz, R.J. and Kopin, I.J.: Release of Norepinephrine- ^3H and Serotonin- ^3H Evoked from Brain Sclices by Electrical Field Stimulation. Calcium Dependency and the Effects of Lithium, Ouabain and Tetrodotoxin. *Biochem. Pharmacol.* 18 (1969) 1935 - 1939
- (36) Kopin, I.J., Breese, G.R., Krauss, K.R., and Weise, V.K.: Selective Release of Newly Synthesized Norepinephrine from the Cat Spleen During Sympathetic Nerve Stimulation. *J. Pharm. Exp. Therap.* 161 (1968) 271 - 278
- (37) Kopin, I.J. (ed.): *Neurotransmitters. Res. Publ., Vol. 50, Baltimore, Williams and Wilkins Comp. 1972*
- (38) Ladisich, W., Volbehr, H., and Matussek, N.: Paradoxical Effect of Amphetamine on Hyperactive States in Correlation with Catecholamine Metabolism in Brain. in: *Amphetamines and Related Compounds. Eds. Costa, E. and Garattini, S. Raven Press, New York, (1970) 487 - 492*

- (39) Ladisich, W. and Baumann, P.: Influence of Progesterone on Norepinephrine Metabolism of the Rat Brain in Connection with Amphetamine and Stress. *Neuroendocrinology* 7 (1971) 16
- (40) Ljungberg, S. and Paalzow, L.: Some pharmacological Properties of Lithium. *Acta psychiat. Scand. Suppl.* 207 (1969) 68 - 78
- (41) Magnusson, G., Corrodi, H., and Hansson, E.: Renal Lesions Induced by α -Methyltyrosine Methyl ester and α -Methyltyrosine. *Acta pharmacol. et toxicol.* 28 (1970) 435 - 444
- (42) Maickel, R.P., Cox, R.H., Salliant, J., and Miller, F.P.: A Method for the Determination of Serotonin and Norepinephrine in Discrete Areas of the Rat Brain. *Int. J. Neuropharmacol.* 7 (1968) 275 - 281
- (43) Matussek, N., und Patschke, U.: Beziehungen des Schlaf- und Wachrhythmus zum Noradrenalin- und Serotoningehalt im Zentralnervensystem von Hamstern. *Med. exp.* 11 (1964) 81 - 87
- (44) Matussek, N.: Habilitationsschrift 79, eingereicht an der Universität München 1966
- (45) Matussek, N.: Beitrag zur Funktion und zum Stoffwechsel des Serotonins und des Noradrenalins im Zentralnervensystem. *Fortschr. der Med.* 12 (1967) 515 - 516
- (46) Matussek, N. und Pohlmeier, H.: Zentrale Mechanismen und psychopathologische Gesichtspunkte der Antriebssteigerung bei gehemmten Depressionen, in: *Pharmakopsychiatrie und Psychopathologie*, hrsgg. H. Kranz, K. Heinrich, Thieme Vlg., Stuttgart (1967) 195
- (47) Matussek, N.: Biochemie der Depression, *J. Neural Transmission* 33 (1972) 223 - 234

- (48) Nagatsu, T., Levitt, M., Udenfriend, S.: Conversion of L-Tyrosin to 3,4-dihydroxyphenylalanin by Cellfree Preparations of Brain and Sympathetically Innervated Tissues. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 14 (1964) 543 - 549
- (49) Neurosciences Research Program Bulletin Vol 8 Nr. 4 1970
- (50) Ploeger, E.J. : The Effect of Lithium on Excitable Cell Membranes. I. The Effect on the Ionic Distribution and the Resting Potential of the Rat Striated Muscle Fibres. *Europ. J. Pharmacol.* 21 (1973) 21 - 24
- (51) Reis, D.J. and Wurtman, R.J.: Diurnal Changes in Brain Noradrenaline. *Life Sciences* 7 (1968) 91 - 98
- (52) Saito, X.: The Circadian Rhythm of Brain Acetylcholine Levels and Motor Activity. *Life Sciences* 10 (1971) 735 - 744
- (53) Scheel Krüger, J. and Randrup, A.: Pharmacological Evidence for a Cholinergic Mechanism in Brain Involved in a Special Stereotyped Behaviour of Reserpinezed Rats. *Brit. J. Pharmacol.* 34 (1968) 217
- (54) Scheel Krüger, J.: Behavioral Hyperaktivities in Reserpinized Rats Correlated with a Central Cholinergic Mechanism. *Beitrag zum C.I.N.P. Kongreß, Prag, August 1970*
- (55) Schildkraut, J.J.: The Catecholamine Hypothesis of Affective Disorders. A Review of Supporting Evidence. *Am. J. Psychiat.* 122 (1965) 509 - 522
- (56) Schildkraut, J.J. in *Psychochemical Research in Man*, eds. Mandell and Mandell Academic Press 1969
- (57) Schildkraut, J.J., Schanberg, S.M., and Kopin, I.J.: The Effect of Lithium Ion on ³H-Norepinephrine in Brain. *Life Sciences* 5 (1966) 1479 - 1483

- (58) Schildkraut, J.J., Logue, M.A., and Dodge, G.A.: The Effect of Lithium Salts on Turnover and Metabolism of Norepinephrine in Rat Brain. *Psychopharmacologia (Berl.)* 14 (1969) 135 - 141
- (59) Schildkraut, J.J., Draskoczy, P.R., Lo, P.S.: Norepinephrine Pools in Rat Brain: Differences in Turnover Rates and Pathways of Metabolism, *Science*, 172, (1971) 587 - 589
- (60) Schiörring, E. and Randrup, A.: "Paradoxical" Stereotyped Activity of Reserpine-treated Rats. *Int. J. Neuropharmacol.* 7 (1968) 71 - 73
- (61) Schubert, J.: Effect of Chronic Lithium Treatment on Monoamine Metabolism in Rat Brain. *Psychopharmacologia (Berlin)* 32 (1973) 301 - 311
- (62) Schou, M., Juel-Nielsen, N., Strömberg, E., and Voldby, H.: The Treatment of Manic Psychoses by the Administration of Lithium Salts. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* 17 (1954) 250 - 260
- (63) Schou, M.: Special Review: Lithium in Psychiatry, in Therapy, and Prophylaxis. *J. Psychiat. Res.* 6 (1968) 67 - 95
- (64) Schou, M.: Lithium Studies: 1. Toxicity. *Acta pharmacol. et toxicol.* 15 (1958) 70 - 84
- (65) Schou, M.: Lithium Studies: 2. Renal Elimination. *Acta pharmacol. et toxicol.* 15 (1958) 85 - 98
- (66) Schou, M.: Lithium Studies: 3. Distribution between Serum and Tissues. *Acta pharmacol. et toxicol.* 15 (1958) 115 - 124
- (67) Schou, M.: Biology and Pharmacology of the Lithium Ion, *Pharmacological Reviews* 9, (1957) 17 - 58
- (68) Segal, D.S., Sullivan, J.L., Ruczenski, R.T., and Mandell, A.J.: Effects of Long-Term Reserpine Treatment on Brain Tyrosine Hydroxylase and Behavioral Activity, *Science* 173, (1971) 847 - 849

- (69) Shore, P.A.: Transport and Storage of Biogenic Amines. in Ann. Rev. Pharmacol. 12 (1972) 209 - 226
- (70) Spector, S., Sjoerdsma, A., and Udenfriend, S.: Blockade of Endogenous Norepinephrine Synthesis by α -Methyl-Tyrosine, an Inhibitor of Tyrosine Hydroxylase. J. Pharm. Exp. Therap. 147 (1965) 86
- (71) Spector, S., Gordon, R., Sjoerdsma, A., and Udenfriend, S.: End-product Inhibition of Tyrosine Hydroxylase as a Possible Mechanism for Regulation of Norepinephrine Synthesis. Molec. Pharmacol. 3 (1967) 549 - 555
- (72) Stahl, E.: Dünnschichtchromatographie, Ein Laboratoriums-handbuch, Springer Verlag 1962
- (73) Stern, D.N., Fieve, R.R., Neff, N.H., and Costa, E.: The Effect of Lithium Chloride Administration on Brain and Heart Norepinephrine Turnover Rates. Psychopharmacologia (Berlin) 14, (1969), 315 - 322
- (74) Sugrue, M.P. and Shore, P.A.: Further Evidence for a Sodium-Dependent, Optically Specific and Reserpine-Sensitive Carrier Mechanism at the Adrenergic Neuron. J. Pharm. Exp. Therap. 177 (1972) 389 - 397
- (75) Svenson, T.H. and Thieme, G.: An Investigation of a New Instrument to Measure Motor Activity of Small Animals. Psychopharmacologia (Berlin) 14 (1969) 157 - 163
- (76) Thompson, K.: Renal Lithium Elimination in Man and Active Treatment of Lithium Poisoning. Acta psychiat. Scand. Suppl. 207 (1969) 12 - 16
- (77) Udenfriend, S.: Molecular Biology Vol. III pp 144 eds. Kaplan, N.O. and Schagara, H.A., Academic Press, New York, 1962
- (78) Udenfriend, S., Zaltzman-Nirenberg, P., and Nagatsu, T.: Inhibitors of Purified Beef Adrenal Tyrosine Hydroxylase. Biochemical Pharmacology, 14, (1965) 837 - 845

- (79) Waziri, R.: Presynaptic Effects of Lithium on Cholinergic Synaptic Transmission in Aplysia Neurons. *Life Sciences* 7 (1968) 865 - 873
- (80) Weil-Malherbe, H., Whitby, L.G., and Axelrod, J.: The Blood Brain Barrier for Catecholamines in Different Regions of the Brain, in: *Regional Neurochemistry*, eds. Kety, S.S. and Elkes, p. 284 ff Pergamon Press, Oxford, 1961
- (81) Wurtman, R.J.: *Catecholamines*, Little, Brown, and Company, Boston, 1965
- (82) Zigmond, M.J. and Wurtman, R.J.: Daily Rhythm in the Accumulation of Brain Catecholamines Synthesized from Circulating ^3H -Tyrosine. *J. Pharm. Exp. Therap.* 172 (1970) 416 - 422

Lebenslauf

Am 29. November 1940 wurde ich in Geilenkirchen bei Aachen als 2. Tochter des damaligen Oberstleutnants Ernst Müller und seiner Ehefrau Hanna geboren. Als 1943 das Rheinland evakuiert wurde, fand meine Mutter mit ihren Kindern in ihrer Heimatstadt Holzminden Unterkunft. In Holzminden an der Weser besuchte ich zunächst die Volksschule und anschließend das Neusprachliche Gymnasium für Mädchen. Nach dem Abitur begann ich 1960 das pharmazeutische Praktikum in der "Solling-Apotheke" in Holzminden. Das pharmazeutische Vorexamen bestand ich im Frühjahr 1962. Zum Wintersemester 1962/63 immatrikulierte ich mich an der Ludwig-Maximilians-Universität in München und arbeitete aushilfsweise in der "Rosen-Apotheke" in München. 1964 wurde mir von der Universität München ein Laborplatz zur Verfügung gestellt, der das Studium der Pharmazie ermöglichte. Mit dem Staatsexamen schloß ich dies Studium im Mai 1967 ab und arbeitete anschließend in der "Solling-Apotheke" und in der "Abteil-Apotheke" in München als Kandidatin der Pharmazie. 1968 erhielt ich die Approbations-Urkunde für Apotheker. Ende 1968 begann ich als Stipendiatin der Max-Planck-Gesellschaft in der neurochemischen Abteilung des MPI Psych. in München unter Anleitung von Herrn Prof. Dr. N. Matussek mit den Experimenten für die vorliegende Arbeit. Durch einen schweren Autounfall, den ich im November 1970 erlitt, verzögerte sich die schriftliche Zusammenfassung dieser Experimente.

